

Giovanna Steffenello-Durigon

**LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA:
AVALIAÇÃO RETROSPECTIVA DOS CASOS
DIAGNOSTICADOS E TRATADOS PELO SERVIÇO DE
HEMATOLOGIA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA ENTRE
2001 E 2013**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Farmácia da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Mestre em Farmácia na Área de
Concentração de Análises Clínicas
Orientadora: Profª. Dra. Maria Claudia
Santos da Silva

Florianópolis
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Steffenello-Durigon, Giovanna
LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA : AVALIAÇÃO RETROSPECTIVA
DOS CASOS DIAGNOSTICADOS E TRATADOS PELO SERVIÇO DE
HEMATOLOGIA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SANTA CATARINA ENTRE 2001 E 2013 / Giovanna
Steffenello-Durigon ; orientadora, Maria Claudia Santos
da Silva - Florianópolis, SC, 2014.
158 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-
Graduação em Farmácia.

Inclui referências

1. Farmácia. 2. Leucemia Promielocítica Aguda. 3.
Fatores Prognósticos. 4. Hemorragia Grave. 5. Mortalidade
Precoce. I. da Silva, Maria Claudia Santos . II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Farmácia. III. Título.

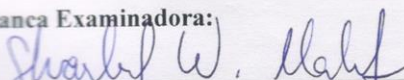
**“Leucemia Promielocítica Aguda: Avaliação
Retrospectiva dos Casos Diagnosticados e Tratados
pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário
da Universidade Federal de Santa Catarina entre 2001
a 2013”**

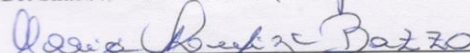
POR

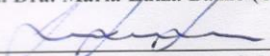
Giovanna Steffenello Durigon

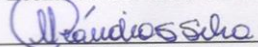
Dissertação julgada e aprovada em
sua forma final pelo(a)
Orientador(a) e membros da
Banca Examinadora, composta
pelos Professores Doutores:

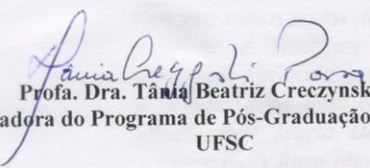
Banca Examinadora:


Prof. Dr. Sharbel Weidner Maluf (UFRGS – Membro Titular)


Profa. Dra. Maria Luiza Bazzo (UFSC – Membro Titular)


Prof. Dr. Leonardo De Lucca Schiavon (UFSC – Membro Titular)


Profa. Dra. Maria Claudia Santos da Silva (UFSC – Orientadora)


Profa. Dra. Tânia Beatriz Creczynski Pasa
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da
UFSC

Florianópolis, 28 de março de 2014.

Por fim, somos frutos dos que nos geraram e sementes dos que deixamos: obrigada à estrela que mais brilha no meu céu, minha amada mãe Maria Helena e à semente mais forte plantada aqui na terra, meu filho Bernardo. Vocês são a razão disso tudo...

AGRADECIMENTOS

Preciso agradecer a todos que me ajudaram a elaborar esse trabalho, talvez muitas dessas pessoas eu irei esquecer de citar aqui, mas peço minhas desculpas e meu muito obrigada. Aprendi muito com todos vocês e com certeza me tornei uma profissional e um ser humano melhor.

A Deus, que por sua presença, luz e força sempre me abençoa e capacita para tudo aquilo que Ele me destina.

À Prof^{ra}. Dr^a. Maria Cláudia, por tornar esse sonho realidade e pela ideia de trabalhar e estudar a Leucemia Promielocítica Aguda, um subtipo de Leucemia tão especial. Obrigada por ter a coragem e persistência de criar um laboratório de ponta (LOEH), com pesquisas científicas modernas e importantes, tanto para nós quanto para os pacientes e para a Instituição. Agradeço toda a sua paciência, a sua amizade, seu carinho e orientação ao longo de todos estes puxados anos. Meus votos são que continuamos a nossa parceria em prol da ciência.

À Prof^{ra}. Dr^a. Ana Carolina, por sempre me receber com a sua voz doce e suave, mesmo quando eu estava quase “desesperada” e por sempre achar soluções para os problemas. Você é um exemplo de prontidão, presteza, inteligência e adorei conhecer melhor essa capricorniana perfeccionista que você é. Obrigada também por nunca desistir e por refazer comigo quantas vezes fossem necessários os dados estatísticos.

À minha querida amiga Prof^{ra}. Dr^a. Joanita, um modelo de perseverança, determinação, coragem e competência. Você se tornou uma grande amiga durante esses 10 anos que trabalhamos juntas e mostrou o coração lindo que tem. Você é um exemplo de ser humano e de profissional.

Às minhas inesquecíveis amigas, Elis, Rosângela, Gládis, Mari, Raquel, Nicole, Lili, Gisele, Bianca, Juju, Sharon e Paty, por fazerem parte, sem dúvida alguma, dos melhores momentos desta jornada.

Aos competentes amigos hematologistas, os Dr^{os}: Juliana, Alessandra, Bárbara, Rodrigo, Cecília pelo carinho, amizade, paciência e discussão

Aos colegas de trabalho, os Dr^{os} Bruno Vieira Dias, André Guedes Vieira e Fabiana Aidar Fermino pelo companheirismo, parceria, paciência, pela ajuda e agradáveis momentos de convivência.

À Prof^{ra}. Dr^a. Rosemeri e ao prof. Dr^o. Marcos pela análise estatística inicial dos dados.

Aos amados colegas do Serviço de Quimioterapia com carinho especial, às enfermeiras Michele e Scheila, aos técnicos Eva, Agostinho, Cláudia e Tânia, ao farmacêutico Patrick e sua equipe, à Mari e à Tali, pois vocês suportaram e entenderam tudo. Vocês fazem a minha vida mais feliz. Eu adoro trabalhar com vocês...

Ao Drº. Saimon Boca Santa, farmacêuticos Arthur e Kauê pela ajuda com a coleta inicial de dados.

A todo o pessoal do Laboratório de Oncologia Experimental e Hemopatias (LOEH), em especial à Renata, à Cris, à Chandra, à Lorena, à Pâmela, que sempre estiveram prontos a me ajudar.

À querida Maria Cristina pela revisão do trabalho em português.

À equipe de técnicos e enfermeiros da Clínica Médica 2 e à equipe multiprofissional do Serviço de Hematologia, pelo cuidado com os pacientes e pela amizade constante.

Aos médicos residentes que passaram pelo Serviço de Hematologia, trazendo sempre aquela vontade de aprender, nos motivando cada vez mais a ensinar.

A todo pessoal do laboratório de Análises Clínicas, em especial à professora Maria Luiza e a Cida pela amizade e carinho em todos os momentos que necessitei da ajuda de vocês.

Ao Hospital Universitário por me proporcionar essa experiência inigualável de poder estudar uma doença tão peculiar.

Ao pessoal do IC-APL em Ribeirão Preto, em especial ao Prof. Drº. Eduardo Rego, à Drª. Sarah Blassi e à técnica Ana Silvia que me receberam com carinho e atenção e me deram uma oportunidade ímpar.

Aos exemplares farmacêuticos, Drika e Alisson, pela ajuda constante e pela amizade. Vocês, mesmo com a pouca idade que têm, me deram importantes lições de vida e aprendizado. Muito obrigada!

Aos pacientes que me deram a oportunidade de aprender. Sem vocês nada disso teria sentido. Obrigada por confiarem, nas minhas mãos, o tratamento dessa doença tão estigmatizada.

Aos meus sogros, Lúcia e Adúcio, por me ajudarem com o pequeno e a viver aqui, longe de minha família e se tornarem a minha família. Obrigada pelos constantes ensinamentos de vida e pela amizade.

Ao meu pai, Rosalino, que mesmo doente e em situação não privilegiada, sempre esteve disposto a me ajudar e com ele aprendi que sempre vale a pena perdoar.

Ao meu irmão Jr. e minha cunhada Ana Carolina, vocês dois são tudo para mim, me encho de lágrimas para escrever algo para vocês e minha gratidão será eterna, pois as palavras para elogiar o quanto

representam e o quanto são importantes na minha vida não cabem numa folha de papel.

E por fim, ao meu marido, meu amigo, meu parceiro, pai do meu filho e mais que ser humano Juliano. Você que me ajudou nessa jornada e ao longo desses 14 anos de convivência, suportando os meus momentos difíceis, em que desistir era a melhor opção. Você que sempre tentou colocar um equilíbrio em tudo, você que trouxe a paz, o amor, o entendimento e o perdão na minha vida, meu muito obrigada. Obrigada por ser a minha família junto com nosso anjo, por me entender, por me ensinar a viver.

“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos. ”

(Paulo Beleki)

RESUMO

A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo distinto de leucemia mieloide aguda (LMA), caracterizado pela presença de um acúmulo de promielócitos anormais na medula óssea e/ou sangue periférico, com risco de coagulopatia e a presença da translocação recíproca e balanceada entre os cromossomas 15 e 17 t(15;17)(q22;q12) e variantes. Nos últimos anos, o curso clínico da LPA tem sido modificado de uma leucemia aguda rapidamente fatal para um dos subtipos de LMA mais curáveis. A introdução de agentes terapêuticos que atuam diretamente na alteração molecular, como o ácido all-trans-retinóico (ATRA) e o trióxido de arsênio (ATO), tiveram um grande impacto na sobrevida dos pacientes com LPA. O diagnóstico presuntivo de LPA deve ser rápido, pois os pacientes correm risco de morte precoce. A incidência da LPA no Brasil é maior (20%) que nos Estados Unidos e Europa Ocidental (5 a 15%). As elevadas taxas de mortalidade, especialmente a mortalidade precoce, fazem com que estudos sejam feitos para o melhor entendimento dessa doença no nosso contexto. Alguns fatores de prognóstico adverso conhecidos têm sido usados como guia de intensificação de tratamento, tais como, o critério de Sanz (2000), o qual se baseia na plaquetopenia ($<40 \times 10^9/L$) e principalmente na hiperleucocitose ($>10 \times 10^9/L$). Porém, ainda se estudam fatores prognósticos adicionais que podem interferir negativamente no curso da doença, a citar: a expressão do CD34 por imunofenotipagem, alto valor da desidrogenase láctica (LDH), mutações no gene do *FLT3*, hemorragia grave, alto *score* de coagulação intravascular disseminada (CIVD), anemia (hemoglobina $<10g/dL$), LPA hipogranular, alterações cromossômicas adicionais (ACA), PML-RAR α transcrito bcr3. Para isso, foram avaliados retrospectivamente os dados clínicos e laboratoriais de 44 pacientes portadores de LPA, diagnosticados e tratados no Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) durante o período de 2001 a 2013. Com os dados obtidos, os pacientes foram classificados conforme categorias de risco (sistema PETHEMA), performance status, distúrbio da coagulação, score de CIVD e fatores prognósticos, como expressão do CD34, mutação FLT3, LPA hipogranular, ACA, valor de hemoglobina e LDH. A resposta do tratamento foi avaliada durante a indução, a consolidação e a manutenção. Além disso, foram analisados a presença de recidiva e o óbito. A LPA correspondeu a 25% dos casos de LMAs. Dos 44 pacientes estudados, 37 (87,8%) tiveram remissão completa. A sobrevida global (SG), sobrevida livre de doença (SLD),

sobrevida livre de eventos (SLE) e o índice de recidiva hematológica (ICR) em 2 anos foram de 77,2%, 67,4%, 67,4% e 8,3%, respectivamente. A mortalidade precoce ocorreu em 15,9%, o que corresponde 78,9% do total de mortes. A maior causa de morte foi a hemorragia grave, especialmente no sistema nervoso central (SNC). Na regressão logística, o fator prognóstico que teve influência para a resposta terapêutica foi: a ausência de sepse ($p=0.007$) e o fator prognóstico que mais influenciou para morte, pela análise multivariada, foi a hemorragia grave ($p<0.0001$), com probabilidade de sobrevivência de 89% em 2 anos, ajustando com esse fator de mau prognóstico. A resposta terapêutica foi melhor alcançada em pacientes que não apresentaram sepse (razão de chance de 9,667). A mortalidade precoce representou quase a totalidade de mortes, sendo a hemorragia grave foi o evento mais importante para a ocorrência de morte nos pacientes com LPA. Reconhecer pacientes de alto risco é de suma importância a fim de se instalar medidas de suporte mais agressivas no intuito de evitar o desfecho desfavorável nesses pacientes. Portanto, conclui-se que o desfecho clínico dos pacientes portadores de LPA no HU-UFSC é adequado e comparável aos grandes centros.

Palavras-chave: Leucemia promielocítica aguda; LPA; fatores prognósticos; hemorragia grave; mortalidade precoce

ABSTRACT

ACUTE PROMYELOCYTIC LEUKEMIA: RETROSPECTIVE EVALUATION OF THE CASES DIAGNOSED AND TREATED BY THE HEMATOLOGY SERVICE OF THE UNIVERSITY HOSPITAL OF THE FEDERAL UNIVERSITY OF SANTA CATARINA BETWEEN 2001 AND 2013.

Acute promyelocytic leukemia (APL) is a distinct subtype of acute myeloid leukemia (AML) characterized by the accumulation of abnormal promyelocytes in bone marrow and/or peripheral blood, with risk of coagulopathy and chromosomal alterations involving the gene locus for the retinoic acid receptor alpha (RAR α) associated in most of cases with reciprocal and balanced translocation between chromosomes 15 and 17 t(15,17)(q22;q12) and their variants. The clinical course of APL has been modified in recent years, from rapidly fatal acute leukemia to one of the curable subtypes of AML. The introduction of therapeutic agents that act directly on the molecular changes, such as all-trans retinoic acid (ATRA) and arsenic trioxide (ATO) had a major impact on APL patient survival, which is around 70-90%. The presumptive diagnosis of APL should be quick, because these patients are at risk for early death. The incidence of APL in Brazil is higher (20%) than in the United States and Western Europe (5-15%). The slightly high mortality rates, especially early mortality, motivate studies to understand this pathology in the Brazilian context. Some known adverse prognostic factors have been used as a guide for intensifying the treatment, such as the criterion by Sanz (2000), which is based on thrombocytopenia ($<40 \times 10^9/L$) and especially on hyperleukocytosis ($>10 \times 10^9/L$). Nevertheless, additional prognostic factors are still being studied that can negatively impact the course of the disease, namely: CD34 expression, high value of lactate dehydrogenase (LDH), mutations in the gene FLT3, severe bleeding, high disseminated intravascular coagulation (DIC) score, anemia (hemoglobin $<10g/dL$), hipogranular APL, additional chromosomal abnormalities (ACAs), PML-RAR α transcript bcr3. For this, it was analyzed retrospectively the laboratory and clinical findings of 44 patients with APL diagnosed and treated at the hematology service of the University Hospital of the Federal University of Santa Catarina (HU-UFSC) between 2001 and 2013. The according with results, the patients were classified following: risk group (PETHEMA system), performance status, coagulation disturbance, DIC score, and prognostic factors such, expression of CD34, FLT3 mutations, APL hipogranular, ACAs, value of hemoglobin,

LDH. The response of treatment was evaluated during induction, consolidation and maintenance, and the occurrence of relapse and death. APL corresponded to 25% of all AML cases in this study. Of the 44 patients studied, 37 (87.8%) had complete remission. Over two years, overall survival (OS), disease-free survival (DFS), event-free survival (EFS) and risk of hematologic relapse (RR) were 77.2%, 67.4%, 67.4% and 8.3%, respectively. Early mortality occurred in 15.9%, representing 78.9% of total APL deaths. The greatest cause of death was severe bleeding, especially in the central nervous system (CNS). In multivariate analysis with logistic regression, the prognostic factor influencing response to therapy were the absence of sepsis ($p=0.007$). The prognostic factor that most influenced death was severe bleeding ($p<0.0001$). Adjusting for this adverse factor, the survival probability was 89% in two years. The best therapeutic response was achieved in patients without sepsis (odd ratio=9.667). Early mortality represents almost all deaths and severe bleeding was the most important event leading to death. Recognizing high-risk patients is crucial more aggressive support measures are implemented aiming to preventing an unfavorable outcome. Thus, it is concluded that the clinical outcomes of APL patients at HU-UFSC is adequate and comparable to large centers.

Keywords: Acute promyelocytic leukemia; APL; prognostic factors, severe hemorrhage; early mortality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Modelo simplificado de uma célula na leucemia promielocítica aguda.....	44
Figura 2	Características morfológicas na leucemia promielocítica aguda.....	46
Figura 3	Padrão imunofenotípico característico na leucemia promielocítica aguda.....	48
Figura 4	Representação esquemática da translocação t(15;17).....	50
Figura 5	Representação dos receptores RAR α e PML-RAR α ...	52
Figura 6	Patogênese molecular da leucemia promielocítica aguda	55
Figura 7	Cariótipo característico da translocação t(15;17).....	58
Figura 8	Representação da detecção da mutação PML-RAR α pela técnica de FISH	59
Figura 9	Fluxograma esquemático de base para o tratamento de leucemia promielocítica aguda	61
Figura 10	Diferenciação de promielócitos anormais induzida pelo tratamento com ATRA.....	62
Figura 11	Resposta terapêutica de do ácido all-trans-retinóico, trióxido de arsênico e associação de ambos	65
Figura 12	Demonstração de uma investigação de t(15;17) por RT-PCR.....	76
Figura 13	Distribuição dos pacientes com diagnóstico de leucemia mieloide aguda.....	85
Figura 14	Distribuição dos pacientes conforme estratificação de risco	86
Figura 15	Gráfico da relação entre os fatores de risco e o número de casos em relação ao desfecho clínico	87
Figura 16	<i>Score</i> de CIVD e desfecho clínico	88
Figura 17	Curva de sobrevida global dos pacientes com leucemia promielocítica aguda	101
Figura 18	Curva de sobrevida livre de doença dos pacientes com leucemia promielocítica aguda	102
Figura 19	Curva de sobrevida livre de eventos dos pacientes com leucemia promielocítica aguda.....	102
Figura 20	Curva de Kaplan-Meyer de sobrevida dos pacientes com leucemia promielocítica aguda que apresentaram hemorragia grave e sem hemorragia grave	106

Figura 21 Curva de Cox representativa da probabilidade de sobrevivência.....**107**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Triagem leucemias agudas	76
Tabela 2	Expansão na suspeita de leucemia mieloide aguda	77
Tabela 3	Parâmetros hematológicos e contagem de células sanguíneas	89
Tabela 4	Características gerais dos pacientes com leucemia promielocítica aguda.....	90
Tabela 5	Características dos pacientes que foram a óbito de acordo com a causa, tempo até óbito e o desenvolvimento da síndrome ao ATRA	95
Tabela 6	Características dos pacientes que foram a óbito de acordo com os possíveis fatores prognósticos.....	96
Tabela 7	Características dos pacientes que foram a óbito de acordo com dados laboratoriais.....	97
Tabela 8	Característica dos pacientes que recidivaram, de acordo com o tipo de recidiva, tempo até recidiva e abandono de tratamento	99
Tabela 9	Características dos pacientes que recidivaram, de acordo com a presença de infecção, estratificação de risco, tratamento e transplante de medula óssea.....	100
Tabela 10	Associação entre fatores prognósticos e morte ou recidiva	104
Tabela 11	Análise multivariada Cox dos fatores de risco para morte na leucemia promielocítica aguda	106

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Classificação para as LMAs e neoplasias relacionadas 38
Quadro 2	Diagnóstico diferencial de leucemia promielocítica aguda com outras causas de pancitopenia 42
Quadro 3	Características dos subtipos de leucemia promielocítica aguda 56
Quadro 4	Critérios de risco para estratificação da leucemia promielocítica aguda 60
Quadro 5	Recomendações de diagnóstico e manejo clínico 66
Quadro 6	<i>Performance status</i> ECOG..... 78
Quadro 7	<i>Score</i> para coagulação intravascular disseminada 79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACA	Anormalidades cromossômicas adicionais
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
Ara-C	Citarabina
ATO	Trióxido de arsênio
ATRA	Ácido all-trans-retinóico
bcr1	Sítio de ponto de quebra 1 (do inglês, <i>breakpoint cluster region 1</i>)
bcr2	Sítio de ponto de quebra 2 (do inglês, <i>breakpoint cluster region 2</i>)
bcr3	Sítio de ponto de quebra 3 (do inglês, <i>breakpoint cluster region 3</i>)
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CID	Classificação internacional de doenças
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
DNR	Daunorrubicina
DRM	Doença residual mínima
FAB	French-American-British Cooperative Group
FISH	Hibridização fluorescente in situ
FLT3	Tirosina cinase 3 semelhante a FMS (do inglês, <i>FMS-like tyrosine kinase 3</i>)
FLT3-D835	Mutação pontual no gene FLT3
FLT3-DIT	Mutação do tipo duplicação interna em tandem no gene FLT3
FT	Fator tecidual
GIMEMA	<i>Gruppo Italiano Malattie e Matologiche dell'Adulto</i>
HDAC	Histona deacetilases
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno leucocitário humano
HU-UFSC	Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina
hTERT	<i>Human telomerase reverse transcriptase</i>
IC-APL	Consórcio Internacional em leucemia promielocítica aguda
IDA	Idarrubicina
IL1 β	Interleucina 1 beta
INCA	Instituto Nacional do Câncer
ICR	Índice Cumulativo de recidiva
ISTH	International Society on Thrombosis and Haemostasis
JNK	Via Jun-N-terminal Kinase

LA	Leucemia aguda
LDH	Lactato desidrogenase
LMA	Leucemia mieloide aguda
LPA	Leucemia promielocítica aguda
MADIT	Metotrexato, dexametasona e citarabina
MO	Medula óssea
MS	Ministério da Saúde
MTZ	Mitoxantrone
NPM	<i>Nucleophosmin</i>
NuMa	<i>Nucleat Matrix-Mitotic Apparatus</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PETHEMA	<i>Programa para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatía Maligna</i>
PLZF	<i>Promyelocitic Leukemia Zinc Finger</i>
PML	<i>Promyelocitic Leukemia</i>
PML-RAR α	Fusão do locus gênico PML e RAR α
RAREs	Elementos responsivos ao ácido retinóico
RAR α	Receptor alfa do ácido retinóico
RNA	Ácido ribonucléico
RQ-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real
RT-PCR	Transcrição Reversa – Reação em Cadeia da Polimerase
RXR	Receptor nuclear do ácido 9-cis-retinóide
SAR	Síndrome do ácido retinóico
SG	Sobrevida Global
SLD	Sobrevida livre de doença
SLE	Sobrevida livre de eventos
SNC	Sistema nervoso central
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TAP	Tempo de protrombina
TCTH	Transplante de células-tronco hematopoiéticas
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
TTPa	Tempo de tromboplastina parcial ativada

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	27
2. OBJETIVOS	31
2.1 Objetivo geral	33
2.2 Objetivos específicos	33
3. REVISÃO DA LITERATURA	35
3.1 Leucemias agudas	37
3.2 Leucemia promielocítica aguda	39
3.2.1 Histórico	39
3.2.2 Epidemiologia	40
3.2.3 Características clínicas da leucemia promielocítica aguda	41
3.2.4 Características morfológicas da leucemia promielocítica aguda	45
3.2.5 Características imunofenotípicas da leucemia promielocítica aguda	47
3.2.6 Características genéticas da leucemia promielocítica aguda	49
3.2.7 Diagnóstico da leucemia promielocítica aguda	56
3.3 Grupos de risco na leucemia promielocítica aguda	60
3.4 Tratamento da leucemia promielocítica aguda	60
3.5 Fatores prognósticos na leucemia promielocítica aguda	68
3.6 Consórcio Internacional da leucemia promielocítica aguda	70
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	73
4.1 Pacientes	75
4.2 Diagnóstico da leucemia promielocítica aguda	75
4.3 Estratificação de risco	77
4.4 Protocolo terapêutico	79
4.5 Definição de resposta	80
4.6 Análise estatística	81
5. RESULTADOS	83
5.1 Características clínicas, laboratoriais e sócio demográficas dos pacientes	85
5.2 Coagulopatia e score de CIVD	87
5.3 Parâmetros Hematológicos	88
5.4 Tratamento	89
5.5 Desfecho clínico	94
5.5.1 Remissão completa	94
5.5.2 Mortalidade precoce	94
5.5.3 Mortalidade global	94
5.5.4 Recidiva da doença	98
5.5.5 Síndrome do ácido retinoico	101

5.5.6 <i>Sobrevida</i>	101
5.6 Análise univariada de fatores prognósticos	103
5.6.1 <i>Fatores prognósticos de morte</i>	103
5.6.2 <i>Fatores prognósticos de recidiva</i>	103
5.7 Análise multivariada de fatores prognósticos	105
5.7.1 <i>Fatores prognósticos de resposta ao tratamento</i>	105
5.7.2 <i>Fatores prognósticos de morte</i>	105
6. DISCUSSÃO	109
6.1 Características clínicas, laboratoriais e sócio demográficas dos pacientes	111
6.2 Desfecho clínico	114
6.2.1 <i>Remissão completa</i>	114
6.2.2 <i>Mortalidade precoce</i>	115
6.2.3 <i>Mortalidade global</i>	115
6.2.4 <i>Recidiva da doença</i>	116
6.2.5 <i>Sobrevida</i>	117
6.2.6 <i>Score de CIVD</i>	118
6.3 Análise univariada de fatores prognósticos	119
6.3.1 <i>Fatores prognósticos de morte</i>	119
6.3.2 <i>Fatores prognósticos para recidiva</i>	119
6.4 Análise multivariada de fatores prognósticos	119
6.4.1 <i>Fatores prognósticos relacionados com a resposta ao tratamento</i>	119
6.4.2 <i>Fatores prognósticos de morte</i>	120
6.5 Consórcio Internacional em leucemia promielocítica aguda ..	121
7. CONCLUSÃO	123
REFERÊNCIAS	128
APÊNDICE	156
Apêndice 1: Termo de consentimento livre e esclarecido	156
Apêndice 2: Documento do comitê de ética	158

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer é uma das principais causas de morte no mundo. Em 2007, o Sistema de Informações sobre Mortalidade registrou que desde 2003, o câncer foi responsável pelo óbito de 7,9 milhões de habitantes no mundo, o que corresponde a 13% de todos os óbitos, e, que em torno de 72% das mortes por câncer ocorreram em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento (OMS, 2010). Esses dados mostram a necessidade de investimentos intelectuais e financeiros e o diagnóstico rápido e preciso para essa doença. A perspectiva é que o número global de mortes por câncer aumente 45% (11,5 milhões de mortes) até 2030, em decorrência do aumento da população e da expectativa de vida (OMS, 2010). No Brasil, o cenário não é diferente, desde 2003 as neoplasias malignas constituem a segunda causa de morte da população, o que representa, aproximadamente, 17% dos óbitos de razão conhecida. As estimativas brasileiras para o ano de 2013, apontaram a ocorrência de 518.510 novos casos de câncer e de 8.510 novos casos de leucemia. No estado de Santa Catarina estavam previstos para o ano de 2013 trezentos novos casos de leucemia (INCA, 2012).

O Instituto Nacional do Câncer (INCA) acrescenta que os gastos do Ministério da Saúde (MS) com o atendimento de pacientes portadores de câncer cresceram 20% entre 2000 e 2007, atingindo R\$ 1,4 bilhão. O valor representa a internação de 500 mil pessoas por ano, 235 mil sessões de quimioterapia e 100 mil de radioterapia por mês. Esses dados mostram que o câncer consolida-se como um importante problema de saúde pública. Por isso, o aumento da eficiência dos tratamentos com o uso de protocolos terapêuticos individualizados e específicos pode resultar na diminuição do tempo de internação hospitalar, diminuição de custos para o Sistema Único de Saúde (SUS) e melhora na qualidade de vida desses pacientes. Portanto, para que haja um correto planejamento do serviço prestado é importante que se conheça o perfil dos pacientes atendidos.

O que motivou a realização deste estudo foi a constatação de que a Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é uma das Leucemias Agudas (LAs) mais frequentemente diagnosticadas e tratadas no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC), daí a necessidade de se saber a situação real, os eventos e desdobramentos envolvendo pacientes.

Com os resultados obtidos neste trabalho, estaremos menos limitados a observar apenas os dados internacionais disponíveis na literatura, mas através desses resultados obteremos o retrato fiel do que é possível ser alcançado com uma estrutura subsidiada basicamente com

recursos públicos, em um hospital como o HU-UFSC, no qual a maioria da população representa classes sociais menos favorecidas, diante de uma doença tratável, mas que necessita pronta e rápida suspeita diagnóstica e instituição precoce de tratamento específico para evitar a morte. A necessidade em se confirmar ou não impressões advindas da experiência profissional, em submetê-las à frieza da análise baseada em evidências, trouxe-nos até aqui. Precisávamos de uma casuística que refletisse a nossa realidade.

Dessa forma, pretende-se responder alguns questionamentos, como: quais seriam as estatísticas dos pacientes que tiveram diagnóstico de LPA e foram tratados na nossa instituição? Haveriam diferenças significativas em relação à literatura internacional? As mudanças no diagnóstico e no tratamento afetaram também a nossa população em estudo? Existem alguns fatores de risco com maior ou menor impacto nesses pacientes? Existem algumas diferenças biológicas nos pacientes do sul do Brasil? Os fatores de risco elaborados por Sanz et al. em 2000 e com a posterior mudança terapêutica diminuindo o uso da citarabina (Ara-C) teriam realmente melhorado os resultados nos nossos pacientes? Quais seriam os fatores que mais influenciaram para a morte, recaída e resposta? As perguntas brotavam em solo fértil.

Além disso, apesar da LPA ter sido a LMA que mais evoluiu em diagnóstico molecular específico e tratamento, saindo do quadro de uma LMA rapidamente fatal para um dos subtipos mais curáveis, ainda assim o risco de morte, principalmente a mortalidade precoce, em alguns casos ainda permanece um problema a ser elucidado. Sendo assim, tem-se como objetivo geral reduzir o risco de recaída, de refratariedade ao tratamento, de sequelas e de óbitos. Para atingir esse objetivo, neste trabalho analisamos retrospectivamente todos os casos de LPA diagnosticados e tratados pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) entre os anos de 2001 e 2013.

As respostas encontradas após esta análise darão origem a várias outras perguntas. E para estas, esperamos, outros estudos que possam satisfazer nossas dúvidas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar os casos de Leucemia Promielocítica Aguda diagnosticados e tratados pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) entre os anos de 2001 e 2013.

2.2. Objetivos específicos

- Investigar a incidência de LPA entre 2001 e 2013 no HU-UFSC e compará-la com as outras LMAs e também com os dados de literatura nacionais e internacionais;
- Traçar o perfil dos pacientes com LPA diagnosticados e tratados no HU-UFSC, em relação às variáveis: a idade, o sexo, o grau de instrução e a procedência;
- Avaliar os métodos diagnósticos utilizados: morfologia, citogenética, imunofenotipagem, biologia molecular;
- Avaliar se a mortalidade ocorreu inicialmente ao diagnóstico, tardiamente ou na recidiva e as suas causas e compará-las com a literatura;
- Analisar a sobrevida global (SG), sobrevida livre de doença (SLD) e sobrevida livre de eventos (SLE) de todos os pacientes do estudo;
- Incluir o nosso estudo no programa de auxílio ao diagnóstico e tratamento da LPA (IC APL) nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento criado pela *American Society of Hematology* (Sociedade Americana de Hematologia);
- Estratificar os pacientes conforme os critérios propostos pelos grupos internacionais (exemplo: PETHEMA e GIMEMA) para avaliar sobrevida;
- Avaliar a resposta do paciente com LPA nas diferentes fases do tratamento (indução, consolidação e manutenção) e suas complicações;
- Analisar a eficácia dos tratamentos de suporte, o acesso aos mesmos e se foram impactantes no desfecho clínico;
- Avaliar a biologia da doença e a presença de fatores comumente conhecidos como responsáveis por baixa resposta à terapia, como a expressão fenotípica de CD34, alterações cromossômicas adicionais (ACA), a presença da mutação no gene *FLT3*, a leucometria elevada, presença de neutropenia, alto

performance status, LDH elevada, LPA hipogranular, transcrito PML tipo bcr3, anemia (hb<10g/dL), *score* de CIVD >6 e a presença de hemorragia grave;

- Avaliar a importância do medicamento de segunda linha Trióxido de Arsênico (ATO) e o papel do Transplante de Medula Óssea no tratamento da LPA;

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Leucemias Agudas

As leucemias constituem um grupo heterogêneo de neoplasias malignas caracterizado pela proliferação descontrolada de células hematopoiéticas na medula óssea (MO) e/ou nos tecidos linfoides, as quais, posteriormente, atingem a circulação periférica e podem se infiltrar em outros sistemas orgânicos (SWERDLOW et al., 2008). Essa proliferação descontrolada resulta de uma expansão clonal de uma única célula-tronco que sofreu uma série de alterações genéticas, as quais se acumulam em um único clone celular, o que confere vantagem proliferativa em relação às demais células e impede o processo de diferenciação. Em decorrência dessa proliferação, as células leucêmicas inibem a produção das células sanguíneas normais, como os leucócitos, os eritrócitos e as plaquetas. Por isso, devido a não funcionalidade das células leucêmicas, os indivíduos afetados, além de sofrerem de anemia e distúrbios hemorrágicos, são mais susceptíveis às infecções por queda das defesas imunológicas (ESTEY, 2001). A transformação leucêmica pode ocorrer em diferentes fases da diferenciação de precursores linfoides ou mieloides, o que caracteriza a leucemia como uma doença heterogênea, sob o aspecto biológico e morfológico. Assim, as leucemias diferem-se quanto à etiologia, patogênese, prognóstico e resposta ao tratamento (PUI; EVANS, 1998; BAIN, 2003).

Com o desenvolvimento de metodologias para o diagnóstico e análise de várias séries de pacientes, foi possível identificar fatores prognósticos altamente relevantes, o que levou à reavaliação da classificação das leucemias de acordo com a origem e linhagem celular, o estágio de maturação e o tipo de anormalidade citogenética ou molecular envolvida na patogênese da doença (SWERDLOW et al., 2008). Assim, em 2008, a OMS publicou uma nova classificação para neoplasias do sistema hematopoiético e linfóide. Como pode ser observado no Quadro 1, para Leucemia Mieloide Aguda (LMA) foram estabelecidas sete subcategorias, como segue: LMA associada a anormalidades genéticas recorrentes, LMA com alterações relacionadas com mielodisplasia, Neoplasias mieloides associadas ao tratamento, LMA não categorizada nos itens anteriores, Sarcoma mielóide, Proliferação mielóide relacionada com síndrome de Down e Neoplasia de células blásticas dendríticas plasmocitoides (SWERDLOW et al., 2008).

Quadro 1- Classificação para as LMAs e neoplasias relacionadas

LMA associada a anormalidades genéticas recorrentes

LMA com t(8;21)(q22,q22); Runx1-RUNX1T1

LMA com inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16) (p13.1;q22);
CBFB-MYH11

LPA* com t(15;17)(q22,q12); PML-RAR α

LMA com t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL

LMA com t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214

LMA com inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-
EVI1

LMA (megacarioblástica) com t(1; 22)(p13;q13);
RBM15-MKL1

Entidade provisória: LMA com mutação NPM1

Entidade provisória: LMA com mutação CEBPA

LMA com alterações relacionadas com mielodisplasia

Neoplasias mieloides associadas ao tratamento

LMA não categorizada nos itens anteriores

LMA com mínima diferenciação

LMA sem maturação

LMA com maturação

Leucemia mielomonocítica

Leucemia monoblástica/monocítica

Leucemia eritroide aguda

Leucemia eritroide pura

Eritroleucemia, eritroide/mieloide

Leucemia megacarioblástica

Leucemia basofílica

Panmielose aguda com mielofibrose

Sarcoma mieloide

Proliferação mieloide relacionada com síndrome de Down

Mielopoiese transitória anormal

Leucemia mieloide associada com síndrome de Down

Neoplasia de células blásticas dendríticas plasmocitoides

LMA: leucemia mieloide aguda; *Leucemia promielocítica aguda

Fonte: Adaptado de Swerdlow et al. (2008).

Entre os subtipos de LMA associadas às anormalidades genéticas recorrentes descritos pela OMS em 2008 está o subtipo Leucemia Promielocítica Aguda (LPA).

3.2. Leucemia Promielocítica Aguda

A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo distinto de LMA, caracterizada pela presença de promielócitos anormais na medula óssea e/ou sangue periférico, pelo risco aumentado de coagulopatias e pela presença, na grande maioria dos casos, da translocação específica envolvendo o cromossomos 15 e 17 [t(15;17)(q22;q12)] PML-RAR α . Além de estar classificada como LMA associada a anormalidades genéticas recorrentes, corresponde morfologicamente ao subtipo M3 e M3 variante (M3v), segundo a classificação Franco-Américo-Britânica (FAB) (BENNET et al., 1976; BRUNNING et al., 2001; VARDIMAN; HARRIS; BRUNNING, 2002; JABBOUR; ESTEY; KANTAJIAN, 2006; SWERDLOW et al., 2008).

3.2.1. Histórico

Os primeiros casos de LMA aguda com púrpura fibrinolítica relatados na literatura foram descritos em 1955 por Cooperberg e Neiman, e por Psciotta Schultz. Em 1957, Leif Hillestad relatou outros três casos de pacientes portadores de LMA, semelhantes aqueles descritos anteriormente, os quais morreram em poucas semanas, e que apresentavam em comum o predomínio de promielócitos na medula óssea, tendência à hemorragia devido a fibrinólise e trombocitopenia e velocidade de hemossedimentação de eritrócitos anormal, provavelmente causada pela redução da concentração de fibrinogênio no plasma. Hillestad denominou esse subtipo de LMA de leucemia promielocítica aguda (LPA) e concluiu que esse era o subtipo mais maligno e letal de LA.

Em 1959, Bernard e colaboradores relataram uma série de 20 casos de LPA, confirmando ser uma entidade específica de doença. Posteriormente, em 1977, Rowley e colaboradores, da Universidade de Chicago, documentaram a translocação entre os cromossomos 15 e 17 [t(15;17)] como um marcador genético da leucemia promielocítica aguda (SHEER et al., 1982; DE THÉ et al., 1990; KAKIZUKA et al., 1991).

Com os avanços científicos, terapias direcionadas a alvos específicos foram desenvolvidas. Para a LPA, foi descoberto o ATRA (Ácido all-trans-retinoico). A primeira paciente tratada com ATRA foi uma menina de 5 anos de idade que recebia tratamento médico no *Shangai Children's Hospital* em 1985. Após o uso de quimioterapia

baseada em antraciclina, a paciente não atingiu remissão e estava criticamente doente. Com o consentimento dos pais da paciente, foi administrado ATRA 45mg/m²/dia. Após três semanas, a menina atingiu remissão completa e manteve o tratamento com ATRA e quimioterapia por 1 ano. Hoje a paciente tem 34 anos e está em remissão da LPA. Estudos posteriores confirmaram o sucesso terapêutico do ATRA em associação com quimioterapia (HUANG et al., 1988; WARREL et al., 1991; WANG et al., 1999).

O arsênico é um fármaco bem conhecido como veneno, mas também usada na medicina ocidental e medicina tradicional Chinesa, desde que foi descrita por Hipócrates (460-370 D.C.) para o tratamento de úlcera de pele, e para tratamento da febre associada à malária pelo chinês Treaty Neijing (263 D.C.). No início dos anos 70, um grupo da *Harbin Medical University* do nordeste da China identificou o Trióxido de Arsênico (ATO) como um componente ativo para medicamentos anticâncer e começaram a usar e testar compostos de arsênico para uma variedade de cânceres (ZHU et al., 2002). Em 1992, Sun e colaboradores, relataram que 21 dos 32 pacientes com LPA entraram em remissão após a administração de uma solução com 1% de ATO. Assim desde os anos 90, estudos com ATO mostraram que o mesmo melhorou a evolução clínica dos pacientes que tiveram recidiva de LPA ou que não respondem ao ATRA (CHEN et al., 1996; CONRAD, 1999; WANG; CHEN, 2008).

3.2.2. Epidemiologia

Além das diferenças já citadas, entre a LPA e as outras LMAs, a LPA também difere em relação a sua incidência. Em geral, a incidência das LMAs aumenta proporcionalmente com o aumento da idade; acima dos 55 anos esse aumento é exponencial. Na LPA a incidência é muito baixa em crianças até 10 anos de idade, no entanto, aumenta entre 13 e 19 anos, atingindo um platô durante a fase de adultos jovens e diminui depois dos 60 anos. Mais de 90% dos casos são diagnosticados entre os 15 e 60 anos e a proporção entre homens e mulheres é próxima de 1 (MALTA COREA et al., 1993; DOUER et al., 1996; MANDELI et al., 2002; RIBEIRO; REGO, 2006; DESCHLER; LUBBERT, 2006).

Outra característica epidemiológica importante dessa doença é a sua alta incidência em determinados grupos étnicos. Estudos indicam uma maior prevalência em populações formadas por latinos e hispânicos. Nos Estados Unidos e norte da Europa, a LPA representa

cerca de 5% a 10% de todas as LMAs, correspondendo a 2 a 3 casos por milhão de habitantes por ano; na parte mediterrânea da Europa corresponde a 10-15% dos casos; e na América Latina, representa aproximadamente 30% das LMAs (DOUER et al., 1996; MANDELLI et al., 2002; DOUER, 2003; DESCHLER; LUBBERT, 2006; REGO, 2009).

No Brasil, a LPA representa 20% dos casos de LMAs e acredita-se que a alta prevalência deva-se as características da miscigenação na população brasileira (MELO et al., 2006; RIBEIRO; REGO, 2006; JÁCOMO et al., 2007).

3.2.3. Características clínicas da leucemia promielocítica aguda

Os sintomas decorrentes das leucemias agudas são inespecíficos e causados pela falência medular, devido à infiltração da medula óssea por um grande número de células leucêmicas, o que impede a hematopoiese normal. Assim, a anemia é frequente e o risco de infecções e sangramentos é significativo (AZEVEDO, 2009).

Os pacientes com LPA costumam apresentar sintomas constitucionais, como febre, observada em 15% a 30% dos pacientes, astenia, fraqueza, dificuldade de realizar as atividades diárias e emagrecimento. Um achado característico no exame físico desses pacientes é a manifestação hemorrágica, como petéquias, equimoses e hematomas. Organomegalia, adenomegalia, infiltração leucêmica do sistema nervoso central (SNC) e da pele são características raras no diagnóstico.

A avaliação do sangue periférico frequentemente revela a presença de anemia, trombocitopenia e leucopenia. No entanto, podem apresentar hiperleucocitose ao diagnóstico (AVVISATI et al., 2001; MANDELLI et al., 2002; JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008). Como há muitas características clínicas em comum entre a LPA e outras doenças, especialmente as que cursam com pancitopenia, o diagnóstico diferencial se faz necessário, a citar no Quadro 2.

Quadro 2 - Diagnóstico diferencial de leucemia promielocítica aguda e outras causas de pancitopenias

- Outras formas de leucemia aguda (mieloide, linfoide)
- Síndrome Mielodisplásica
- Anemia aplástica
- Osteomielofibrose
- Linfoma não Hodgkin com infiltração da medula óssea
- *Hairy cell* leucemia
- Hipersplenismo de várias causas
- Alterações tóxicas/reativas na medula óssea
- Deficiência de vitamina B12
- Infecções virais
- Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN)
- Sepses

Fonte: HOFFMAN, 2002.

Dentre as particularidades das características clínicas da LPA, destaca-se a coagulopatia grave, a qual pode induzir a complicações trombóticas e hemorrágicas (GRIMWALDE; LO-COCO, 2002). Cerca de 60 a 80% dos pacientes apresentam durante o diagnóstico alguma síndrome hemorrágica, a qual pode ser fatal em alguns pacientes durante o período de apresentação da doença. Aproximadamente 5% a 15% dos pacientes portadores de LPA morrem em consequência de hemorragia antes do início do tratamento, e entre 20% e 25% no período que vai desde o diagnóstico até um mês do tratamento, período considerado como mortalidade precoce e de fundamental importância na LPA. A variante hipogranular encontra-se especificamente associada com o risco elevado de mortalidade precoce em decorrência de hemorragia (AVVISATI et al., 2001; SANZ et al., 2005; ARBUTHNOT et al., 2006).

A coagulopatia ocorre na maioria dos pacientes com LPA e está relacionada com risco de morte aumentado. Portanto, são imperativos o diagnóstico precoce e a detecção de qualquer defeito na coagulação. A coagulopatia é causada direta ou indiretamente pelas células leucêmicas, através da ativação dos fatores de coagulação, fibrinólise, geração de citocinas e proteases, associados com a falência na produção de plaquetas, devido à invasão medular (BREEN, 2011).

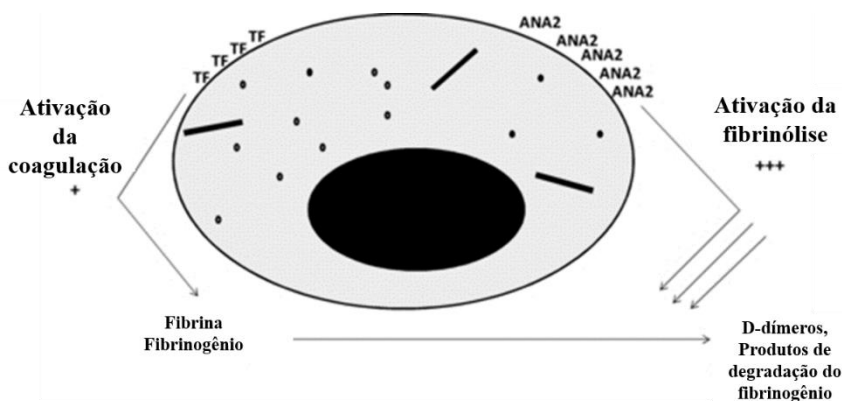
A expressão do fator tecidual (FT) pelos promielócitos leucêmicos resulta na ativação do fator VII, levando a formação do complexo inicial (FT/FVIIa) que irá ativar o fator X (FT/FVIIa/FXa), resultando do estímulo inicial que contribui para o processo da coagulação intravascular disseminada (ANDOH et al., 1987; MÉIS; LEVY, 2007). Além disso, o fator pró-coagulante neoplásico é, também, muito expresso nos promielócitos anormais, sendo responsável pelo estado trombofílico da doença, pois, atua ativando diretamente o fator X, levando a geração de trombina, independente da ativação prévia do fator VII (ARBUTHNOT et al., 2006; MÉIS; LEVY, 2007; TALLMAN et al., 2007).

A expressão de citocinas inflamatórias, interleucinas 1 β (IL-1 β) e fator de necrose tecidual (TNF α) pelos promielócitos leucêmicos irá estimular as células endoteliais dos vasos sanguíneos a expressarem o fator tecidual, bem como a diminuição da regulação da trombomodulina na superfície das células e irá estimular a produção de inibidor do ativador de plasminogênio-1. Como resultado desses eventos combinados, têm-se modificações no endotélio vascular, gerando superfície pró-trombótica, contribuindo para o surgimento da coagulação intravascular disseminada (ARBUTHNOT et al., 2006).

Ao contrário do que acontece na coagulação intravascular clássica, a vida média das plaquetas, bem como a concentração de anticoagulantes naturais (antitrombina e proteína C) no plasma, encontram-se normais nos pacientes com LPA (VELLENGA; MULDER, 1980; WILDE; DAVIES, 1990; JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008).

Menell e colaboradores, em 1999, estudando a expressão da anexina II na superfície das células leucêmicas de pacientes com LPA e outras leucemias, verificaram uma hiperexpressão de anexina II nas células de LPA, o que não foi observado nas outras LMAs. A anexina II é um receptor de superfície celular para o plasminogênio, bem como para um dos seus ativadores, o ativador tecidual do plasminogênio. Portanto, a expressão aumentada da anexina II leva ao aumento na produção de plasmina, principal enzima fibrinolítica; como resultado, o inibidor α 2 da plasmina (α 2PI) é rapidamente consumido e a plasmina ativa acumula-se no plasma, favorecendo o quadro hiperfibrinolítico da doença. Além disso, apesar da concentração do inibidor da fibrinólise ativado pela trombina ser normal, sua atividade apresenta-se acentuadamente reduzida (MEIJER et al., 2000; AVVISATI et al., 2001; ARBUTHNOT; WILDE, 2006). A Figura 1 mostra de forma esquemática a fisiopatologia da CIVD na LPA

Figura 1 - Modelo simplificado de uma célula na leucemia promielocítica aguda



A célula leucêmica *super* expressa o fator tecidual (TF) e Anexina 2 (ANA2), resultando em coagulação intravascular disseminada (CIVD) e ativação fibrinolítica. A fibrinólise geralmente predomina, causando hiperfibrinogenemia e alto risco de sangramento.

Fonte: Adaptado de BREEN; GRIMWADE; HUNT, 2012.

Existem ainda outros fatores que contribuem para essas coagulopatias associadas à LPA, como:

- Excessiva liberação de proteases pelos grânulos dos promielócitos leucêmicos, o que leva a um aumento dos níveis séricos de elastase, que além de agir diretamente na destruição do coágulo de fibrina, também tem ação inibitória sobre a coagulação mediante a lise de fibrina e geração de seus produtos de degradação (FEDERICI et al., 1996; ARBUTHNOT; WILDE, 2006; JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008);
- Aumento das concentrações do fator de von Willebrand e dos seus fragmentos em circulação, estes últimos provavelmente como consequência da ação proteolítica da plasmina e também da elastase (FEDERICI et al., 1996; ARBUTHNOT; WILDE, 2006; JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008).

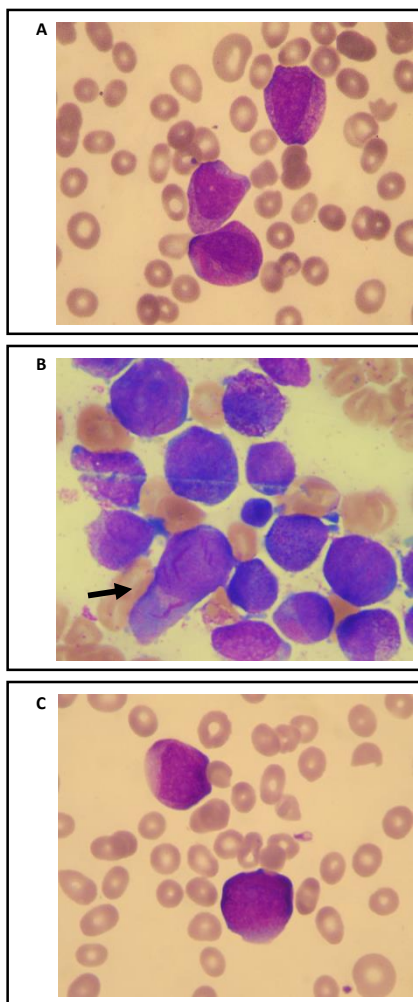
3.2.4. Características morfológicas da leucemia promielocítica aguda

Morfológicamente, a LPA não é uma entidade homogênea, apresentando três variantes citológicas: a variante clássica hipergranular e a variante hipogranular ou microgranular, as quais representam aproximadamente 85% e 15% de todas LPAs, respectivamente. Uma outra forma muito rara, a variante basofílica, tem também sido descrita (MANDELLI et al., 2002).

As células leucêmicas, presentes na variante clássica hipergranular, são promielócitos anormais, os quais apresentam núcleos com contornos irregulares, com a forma bilobulada ou reniforme, o citoplasma é abundante, e apresenta grande quantidade de grânulos azurófilos (Figura 2A). Podem apresentar múltiplos bastonetes de Auer, os quais algumas vezes, se agrupam em feixes, o que caracteriza as “*faggot cells*” (células com maços ou feixes), como pode ser observado na Figura 2B. (AVVISATI et al., 2001; BRUNNING et al., 2001).

A variante hipogranular ou microgranular caracteriza-se pela presença de células leucêmicas com núcleo predominantemente bilobulado e convoluto, conforme apresentado na figura 2C. O citoplasma aparentemente é hipogranular, com ausência de grânulos ou escassos, que se apresentam, geralmente, minúsculos, não perceptíveis ao microscópio óptico (AVVISATI et al., 2001; BRUNNING et al., 2001; LISO; BENNETT, 2003).

Figura 2 - Características morfológicas na leucemia promielocítica aguda



A – Promielócitos leucêmicos em sangue periférico, presentes na leucemia promielocítica aguda hipergranular; B - Promielócitos leucêmicos em medula óssea, presentes na leucemia promielocítica aguda hipergranular. Na seta, observa-se uma *faggot cell*; C - Promielócitos leucêmicos em sangue periférico, presentes na leucemia promielocítica aguda hipogranular.

Fonte: Divisão de Análises Clínicas do HU-UFSC

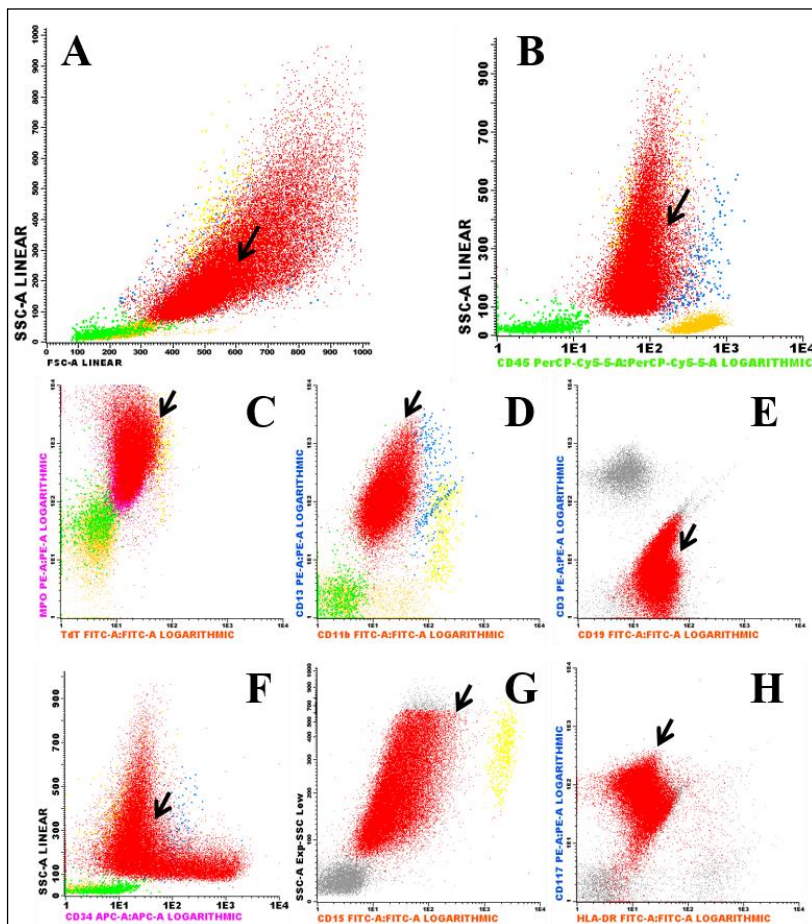
Já na variante basofílica, as células leucêmicas apresentam uma alta proporção núcleo/citoplasma e o citoplasma é fortemente basofílico com nenhum ou poucos grânulos dispersos (AVVISATI et al., 2001; BRUNNING et al., 2001; LISO; BENNETT, 2003).

No estudo da biópsia de medula óssea na LPA geralmente se observa uma medula hiper celular, com promielócitos anormais, os quais possuem o núcleo frequentemente convoluto, citoplasma relativamente abundante e com numerosos grânulos; os bastonetes de Auer podem ser identificados (BRUNNING et al., 2001).

3.2.5. Características imunofenotípicas da leucemia promielocítica aguda

A imunofenotipagem é especialmente recomendada para a classificação das LMAs, pois define a linhagem e o estágio de maturação das células (OELSCHLAEGEL et al., 2009). Estudos com marcadores de superfície mostram que as células da LPA têm um padrão imunofenotípico distinto quando comparado a outras LMAs (SAGRILLO et al., 2005). A LPA apresenta um fenótipo característico, no qual comumente o CD34 e HLA-DR são negativos ou fracamente positivos; CD11b e CD15 negativos; CD13 heterogêneo; e CD33 positivo homogêneo em alguns casos, o CD117 é expresso, embora algumas vezes fracamente (ORFAO et al., 1999; SWERDLOW et al., 2008; KALINA et al., 2012). A negatividade de CD34 e HLA-DR possui relação com o cariótipo normal em pacientes com LPA, um perfil imunofenotípico com positividade nesses marcadores está associando com a mutação no gene FLT3 (KUSSICK et al., 2004). Nos casos de morfologia hipogranular ou do transcrito PML *break cluster region 3* (bcr3) do gene de fusão PML-RAR α , é frequente a expressão de CD34 e CD2, pelo menos em alguns promielócitos (SWERDLOW et al., 2008). Os marcadores de diferenciação granulocítica, CD15 e CD65, são negativos ou fracamente expressos. Em aproximadamente 20% dos casos de LPA ocorre a expressão de CD56, o qual tem sido associado com mau prognóstico (SWERDLOW et al., 2008). Para exemplificar o padrão imunofenotípico da leucemia promielocítica, apresentamos a seguir um caso diagnosticado no HU-UFSC (Figura 3).

Figura 3 - Padrão imunofenotípico característico na leucemia promielocítica aguda



A – Citograma - FSC: tamanho celular; SSC: complexidade celular. Na seta, a região de promielócitos.

B – Citograma - SSC: complexidade celular e expressão celular do antígeno CD45.

C – Citograma demonstrando a expressão positiva para MPO e expressão negativa de TdT.

D – Citograma demonstrando a expressão positiva para o antígeno CD13 e expressão negativa para o antígeno CD11b.

E – Citograma demonstrando a expressão negativa para os antígenos CD19 e CD3.

F - Citograma - SSC: complexidade celular e variação de negativa para fracamente positiva da expressão de CD34.

G - Citograma - SSC: complexidade celular e expressão negativa para o antígeno CD15.

H - Citograma demonstrando a expressão fracamente positiva para o antígeno CD117 e expressão negativa para o antígeno HLA-DR.

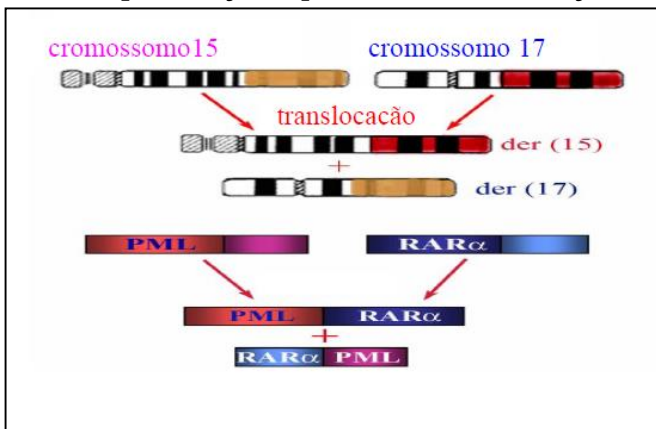
*CD: *cluster of differentiation*; MPO: mieloperoxidase; TdT: desoxinucleotidil transferasa terminal; HLA-DR: *human leukocyte antigen*.

Fonte: Divisão de Análises Clínicas do HU-UFSC

3.2.6. Características genéticas da leucemia promielocítica aguda

O acúmulo de precursores hematopoiéticos bloqueados no processo maturativo no estágio de promielócitos na LPA está associado com a presença de alterações cromossômicas estruturais, como por exemplo, translocações. Na grande maioria das vezes, as translocações envolvem o *locus* gênico para o receptor alfa do ácido retinóico (RAR α) localizado no braço longo do cromossomo 17 (17q21), e resultam na formação de genes quiméricos e de oncoproteínas de fusão (VILLA et al., 2004; ZHOU et al., 2005; VITOUX et al., 2007).

Aproximadamente 98% dos casos de LPA apresentam a translocação cromossômica recíproca t(15;17)(q22;q21) entre o *locus* gênico para o PML (“*Promyelocitic Leukemia*”), localizado no braço longo do cromossomo 15 (15q22), e o *locus* gênico para o receptor alfa do ácido retinóico (RAR α), localizado no braço longo do cromossomo 17 (17q21), o que resulta na formação de dois genes híbridos: PML-RAR α , localizado no derivativo do cromossomo 15 [der(15)], e o RAR α -PML, localizado no derivativo do cromossomo 17 [der(17)], conforme pode ser observado na Figura 4. O transcrito de fusão PML-RAR α pode ser detectado em 100% dos pacientes com a t(15;17), enquanto o recíproco RAR α -PML é ausente em 10% a 20% desses casos, o que sugere que o PML-RAR α tem um papel na leucemogênese da LPA (GRIMWADE; LO-COCO, 2002; SIRULNIK et al., 2003; VITOUX; NARS; DE THÉ, 2007; HOEMME et al., 2008; WANG; CHEN, 2008).

Figura 4 - Representação esquemática da translocação t(15;17)

PML: *Promyelocytic Leukemia*; RARα: receptor alfa do ácido retinóico

Fonte: Adaptado de WANG; CHEN, 2008.

O gene *PML* é considerado um gene supressor de tumor implicado no controle da estabilidade genômica. Estudos com células em cultura sugerem que ele controla a indução da apoptose dependente de p53, supressão de crescimento e senescência celular em resposta à radiação ionizante e transformação oncogênica. (GURRIERI et al., 2004).

Na translocação cromossômica t(15;17), o ponto de quebra no gene *PML* pode ser variável, e, por isso, pode gerar produtos de tamanhos e isoformas diferentes do transcrito PML-RARα entre os pacientes. No entanto, no mesmo paciente o transcrito é invariável, o que demonstra a natureza clonal do fenômeno. A quebra cromossômica do gene *PML* pode ocorrer em três sítios: o íntron 6, o éxon 6 e o íntron 3, levando à formação de três subtipos de transcritos do gene híbrido PML-RARα: o longo (bcr1), o variável (bcr2) e o curto (bcr3) respectivamente (GU et al., 2002; CHOPPA et al., 2003; RUIZ-ARGUELLER et al., 2004).

Estudos indicam que a variabilidade genética, correlacionada à distribuição geográfica, podem influenciar na frequência de um determinado sítio de quebra do gene *PML*. Por exemplo, pacientes oriundos da América Latina apresentam alta incidência de transcritos bcr1/3, contudo a correlação entre esses subtipos de transcritos e parâmetros clínicos ainda é controversa

(CHAUFFAILLE et al., 2001; DOUER et al., 2003; RUIZ-ARGUELLER et al., 2004; MELO et al., 2006).

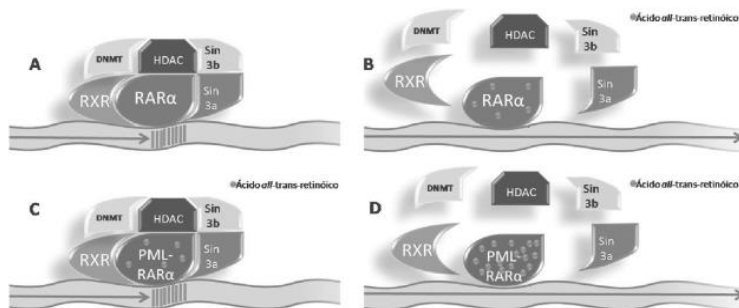
O gene $RAR\alpha$ codifica o receptor alfa do ácido retinóico, o qual faz parte da superfamília de receptores nucleares de hormônios. Estes receptores atuam como reguladores da transcrição dependentes do ligante, que são capazes de se ligar a segmentos específicos do DNA, denominados elementos responsivos ao hormônio, tendo um papel fundamental na diferenciação mieloide (ASOU, 2007).

O receptor alfa do ácido retinóico ($RAR\alpha$) se liga a elementos responsivos ao ácido retinóico (RAREs) presentes nas regiões promotoras de seus genes-alvo, os quais estão envolvidos com o processo de diferenciação mieloide. Para isso, é necessária sua heterodimerização com o RXR (receptor nuclear do ácido 9-cis-retinóide) formando o complexo $RAR\alpha/RXR$, o qual pode atuar como um complexo de repressão ou como um complexo de ativação da transcrição desses gene-alvo (KASTNER; CHAN, 2001).

Na ausência do ligante (ácido retinóico), o $RAR\alpha/RXR$ liga-se a segmentos específicos do DNA na região promotora de seus genes-alvo e se associa com corepressores transcricionais SMRT ou N-CoR, os quais recrutam as histonas desacetilases (HDAC), formando um complexo repressor. Esse complexo formado vai produzir a desacetilação de histonas e induzir a condensação da cromatina na região promotora, o que impede a organização dos fatores de transcrição basal, e, dessa forma, reprime a transcrição desses genes (LEAL; KUMEDA; VELOSO, 2009).

Em concentrações fisiológicas de ácido retinóico (1 nM) não são capazes de liberar o complexo do co-repressor nuclear RXR- $RAR\alpha$ e recrutar co-ativadores com atividade de histona acetiltransferase. Como consequência da fusão PML- $RAR\alpha$, pode ocorrer homodimerização com outra PML- $RAR\alpha$, e o híbrido ligar-se ao complexo co-repressor histona desacetilase com maior afinidade que o $RAR\alpha$ tipo selvagem. A liberação do complexo somente é obtida através de doses farmacológicas de ATRA (1 μ M), o que possibilita a descondensação da cromatina e o amadurecimento normal da célula (GRINWADE, 1999; KASTNER; CHAN, 2001; ASOU, 2007).

Figura 5 - Representação dos receptores RAR α e PML-RAR α



A – Complexo repressor formado pelo receptor α do ácido retinóico (RAR α), receptor X dos retinoides (RXR), co-receptores nucleares Sin3a e Sin3b, histonas deacetilases (HDAC) e DNA metiltransferases (DNMT). B – O RAR α , quando ligado ao ácido all-trans-retinóico (ATRA) dissocia o complexo repressor, permitindo a transcrição. C – A proteína originada pelo gene de fusão PML-RAR α tem sensibilidade diminuída ao ATRA, e somente em doses suprafisiológicas há a ligação que permite a dissociação do complexo repressor (D).

Fonte: Adaptado de JÁCOMO; FIGUEIREDO-PONTES; REGO, 2008.

Na translocação cromossômica t(15;17), o ponto de quebra no gene RAR α é invariável e, ocorre sempre no segundo íntron. O transcrito de fusão PML-RAR α , retém os domínios funcionais tanto do PML como do RAR α . Dessa forma, a oncoproteína de fusão mantém a capacidade de ligação à proteína parental e de formar heterodímero com RXR e de se ligar a elementos responsivos ao ácido retinóico (RAREs), típicos ou variantes, presentes nas regiões promotoras de genes relacionados com a diferenciação granulocítica (GRIMWADE, 1999; REDNER, 2002).

A oncoproteína de fusão modula a repressão da transcrição de genes-alvo do receptor alfa do ácido retinóico ligando-se aos elementos responsivos desses genes, recrutando o complexo co-repressor, o qual é formado por proteínas co-repressoras e histonas, desacetilases, o que leva à compactação da cromatina e repressão da transcrição gênica. Estudos recentes indicam que a oncoproteína PML-RAR α também é capaz de recrutar histonas metiltransferases e DNA metiltransferases (Dnmt1 e Dnmt3), as quais são responsáveis pela metilação e consequente inibição da transcrição. É importante que essa oncoproteína tenha uma habilidade adicional para recrutar proteínas co-

repressoras, tendo a capacidade de recrutar tanto no domínio PML como no domínio RAR α . Devido a esse estado de oligomerização, a oncoproteína PML-RAR α forma um complexo estável com o complexo co-repressor. (OHNISHI, 2007; VILLA et al., 2004; MATSUSHITA et al., 2006; LO-COCO; AMMATUNA, 2006; HOMAECHE; LICHT, 2007; WANG; CHEN, 2008).

O PML-RAR α também pode cooperar com a ativação de mutações em tirosinas quinases, tal como a FLT3, o que confere vantagem proliferativa e sobrevida às células hematopoiéticas. Mutações no FLT3 estão relacionadas à progressão da doença e têm sido detectadas em frequência alta, até de 45% nos pacientes portadores de LPA (NOGUERA et al., 2002; GALE et al., 2005; ZHOU et al., 2005).

Estudos com camundongos transgênicos indicam que, apesar da presença da oncoproteína de fusão PML-RAR α ser essencial para a patogênese da doença, alterações e mutações em outros genes, tal como FLT3 e K-ras, são necessárias para um fenótipo transformante completo (KELLY et al., 2002; CHAN et al., 2006).

Cerca de 20% a 40% dos pacientes com LPA apresentam, durante o diagnóstico, outras alterações cromossômicas além da t(15;17). Essas alterações são denominadas de alterações cromossômicas adicionais (ACA). Entre elas, as mais frequentes são a trissomia do cromossomo 8, as anormalidades estruturais no cromossomo 9, a trissomia do cromossomo 21, o isocromossomo do braço longo do cromossomo 17, deleção do cromossomo 7, entre outros. O papel dessas alterações citogenéticas adicionais no prognóstico da doença ainda não é bem claro, mas no geral conferem uma pior resposta terapêutica (SCHOCH et al., 1996; HIORNS et al., 1997; DE BOTTON et al., 2000; PANTIC et al., 2000; CASSINAT; CHOMIENNE, 2001; HERNÁNDEZ et al., 2001; XU et al., 2001; WAN et al., 2003).

Em alguns casos, ocorrem variantes complexas da translocação envolvendo os cromossomos 15 e 17, onde além do envolvimento desses cromossomos que levam à formação do transcrito PML-RAR α , há o envolvimento de um ou mais outros cromossomos. Como exemplo, pode-se citar a t(6;15;17)(q25;q22;q21), descrita por Eclache e colaboradores em 2005, a qual envolve os cromossomos 6, 15 e 17. Sabe-se que o curso prognóstico dos pacientes portadores de LPA que apresentam essas variantes complexas da t(15;17), em que a fusão PML-RAR α permanece intacta no derivativo do cromossomo 15, não difere do curso prognóstico observado nos pacientes com a típica t(15;17) (TIRADO et al., 2005).

Em aproximadamente 2% dos casos, o gene $RAR\alpha$ pode estar fusionado com outros genes que não o PML, o que leva à formação de proteínas de fusão conhecidas genericamente como X- $RAR\alpha$. Essas proteínas de fusão representam o resultado de alterações estruturais, em sua grande maioria translocações alternativas, que envolvem o *locus* gênico para o receptor alfa do ácido retinóide ($RAR\alpha$) localizado no cromossomo 17q21, mas não o *locus* gênico para o PML (SAINTY et al., 2000; GRIMWADE et al., 2000; BROCKMAN et al., 2003; ZHOU et al., 2005).

A primeira translocação alternativa, envolvendo o *locus* gênico para o receptor alfa do ácido retinóico ($RAR\alpha$) na LPA, foi descrita por Chen e colaboradores, em 1993, em um paciente portador de LPA que apresentava o cariótipo incomum: 46, XY, t(11;17)(q23;q21). Essa translocação ocorre entre o *locus* gênico para o PLZF (*Promyelocytic Leukemia Zinc Finger*), localizado no braço longo do cromossomo 11 (11q23), e o *locus* gênico para o receptor alfa do ácido retinóico ($RAR\alpha$), localizado no braço longo do cromossomo 17 (17q21), o que leva à formação de dois genes híbridos: PLZF- $RAR\alpha$ e o $RAR\alpha$ -PLZF (REDNER, 2002). O gene PLZF, também denominado de ZBTB16 (SWERDLOW et al., 2008), codifica uma proteína que atua como um fator repressor da transcrição gênica (MELNICK; LICHT, 1999; REDNER, 2002). Levantamentos epidemiológicos indicam o rearranjo molecular PLZF- $RAR\alpha$ como o segundo rearranjo molecular associado com a LPA mais comum, representam aproximadamente 0,8% dos casos de LPA (GRIMWADE et al., 2000).

A LPA com a presença da t(11;17)(q23;q21) apresenta algumas características morfológicas e imunofenotípicas que permitem diferenciá-la da LPA clássica que incluem: núcleo mais regular, aumento do número de células com projeções citoplasmáticas, expressão frequente de CD56 e morfologia intermediária entre LMA com maturação. Além disso, ao contrário da clássica, na LPA com a t(11;17)(q23;q21), a expressão da proteína de fusão recíproca $RAR\alpha$ -PLZF pode influenciar nas características e no curso da doença (GRIMWADE et al., 2000; SAINT et al., 2000; REDNER et al., 2002; MANDELLI et al., 2002).

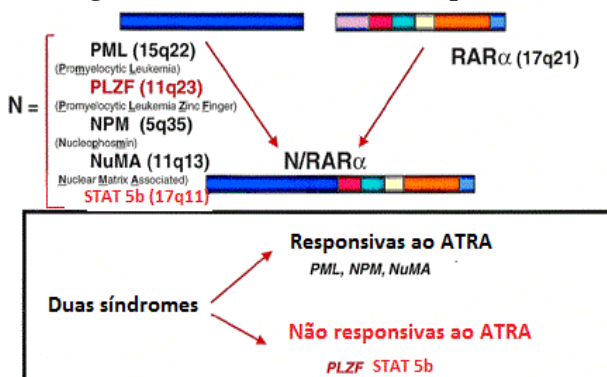
A outra alteração citogenética descrita, foi a translocação entre os cromossomos 5 e 17, t(5;17)(q35;q21), com o envolvimento do *locus* gênico para o NPM (*Nucleophosmin*), localizado no braço longo do cromossomo 5 (5q35), e o *locus* gênico para o receptor alfa do ácido retinóico ($RAR\alpha$), localizado no braço longo do cromossomo 17 (17q21), como resultado tem-se a formação de dois genes híbridos:

NPM-RAR α e o RAR α -NPM (REDNER, 2002). O fenótipo de LPA associado a essa translocação é morfologicamente semelhante o da LPA clássica (MELNICK; LICHT, 1999; REDNER, 2002).

Outra translocação alternativa descrita na literatura é a t(11;17)(q13;q21), na qual ocorre o envolvimento do *locus* gênico para o gene NuMA (*Nucleat Matrix-Mitotic Apparatus*), localizado no braço longo do cromossomo 11 (11q13), e do *locus* gênico para o receptor alfa do ácido retinóico (RAR α), localizado no braço longo do cromossomo 17 (17q21), que leva à formação do gene híbrido NuMA-RAR α ; a presença do híbrido RAR α -NuMA não tem sido descrita. O híbrido NuMA-RAR α é considerado o primeiro rearranjo genético em que ocorre o envolvimento de um gene relacionado com o aparato mitótico em neoplasia humana. A proteína NuMA parece ter papel no núcleo interfásico, como um componente importante da matriz nuclear, o qual auxilia na função do fuso durante a mitose, na reorganização nuclear durante a telófase e no processo de apoptose (MELNICK; LICHT, 1999; GRIMWADE et al., 2002; REDNER, 2002).

A Figura 6 apresenta a patogênese molecular da LPA conforme os diferentes tipos de mutações.

Figura 6 - Patogênese molecular da leucemia promielocítica aguda



ATRA: ácido all-trans retinóico; PML: *Promyelocytic Leukemia*; PLZF: *Promyelocytic Leukemia Zinc Finger*; NPM: *Nucleophosmin*; NuMA: *Nucleat Matrix-Mitotic Apparatus*; STAT 5b: *Signal transducer and activator of transcription 5B*; RAR α : receptor α do ácido retinóico.

Fonte: Adaptado de GRIMWADE et al., 2002.

A LPA é, portanto, um exemplo de malignidade hematológica onde se tem a combinação de alterações genéticas e epigenéticas no

processo de leucemogênese, alterações cromossômicas estruturais, as quais influenciam no equilíbrio dinâmico da cromatina na região promotora de alguns genes (MENDITI; KANG, 2007).

O Quadro 3 apresenta resumidamente as principais características supracitadas, relacionadas aos subtipos de LPA.

Quadro 3 - Características dos subtipos de leucemia promielocítica aguda

	Variante LPA hipergranular	Variante LPA hipogranular
Incidência Relativa (%)	85-90	10-15
Contagem celular sanguínea diferencial	Leucopenia	Leucocitose
Morfologia	<ul style="list-style-type: none"> - Blastos grandes - Numerosos grânulos - Bastonete de Auer, frequentemente em feixes - “Faggot cells” 	<ul style="list-style-type: none"> - Blastos monocitóides - Hipogranular - Poucos ou ausência de bastonetes de Auer - “Fagott cells”
Citoquímica	POX ¹ fortemente positiva	POX fortemente positiva
Imunofenótipo ²	CD2-, CD13+, CD33+, CD34-, CD117+, HLA-DR -	CD2+, CD13+, CD33+, CD34+, CD117+, HLA-DR -

LPA: leucemia promielocítica aguda; ¹ Peroxidase leucocitária; ² CD: Cluster of differentiation.

Fonte: Adaptado de SWERDLOW et al., 2008.

3.2.7. Diagnóstico da leucemia promielocítica aguda

Na LPA, o diagnóstico precoce é um ponto crítico e fundamental para o início da terapia específica (LOCK et al., 2004; RIZZATI et al., 2004). Vários métodos laboratoriais têm sido empregados em conjunto para auxiliar no diagnóstico, tais como: hemograma, mielograma, biópsia de medula óssea, imunofenotipagem

por citometria de fluxo, imunofluorescência com detecção de anticorpos anti-PML, reação em cadeia de polimerase por transcrição reversa (RT-PCR ou RQ-PCR), citogenética convencional e molecular, os quais permitem detectar as características da doença (LO-COCO et al., 1999; SCOCH et al., 2002).

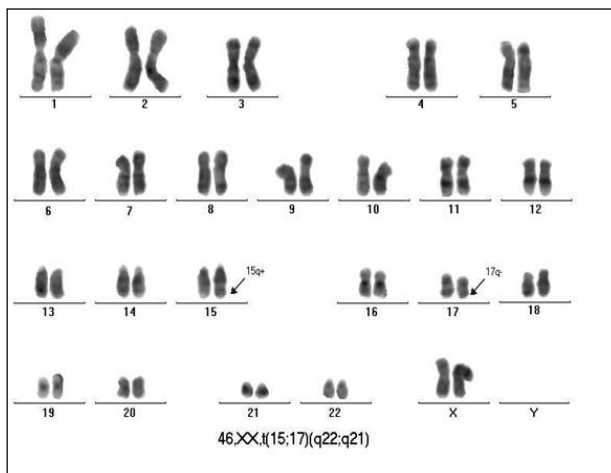
Em geral, no hemograma evidencia-se pancitopenia. Nos casos que existe leucocitose, essa se apresenta discreta e podem ser observados promielócitos leucêmicos no sangue periférico (JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008). Já no mielograma evidencia-se a infiltração maciça por promielócitos neoplásicos que se coram fortemente à reação da mieloperoxidase e ao *Sudan black*. Os promielócitos na LPA apresentam características morfológicas anormais, como núcleo excêntrico, muitas vezes com chanfraduras e bilobulados; o citoplasma completamente ocupado por grânulos grandes ou finos, compactados, que, quando corados pela coloração de *May-Grünwald-Giemsa*, apresentam coloração de rosa brilhante ao vermelho ou roxo. A LPA também se caracteriza pela presença de *Faggot cells* (células com maços ou feixes) que são promielócitos leucêmicos com múltiplos bastonetes de Auer distribuídos de forma aleatória no citoplasma formando feixes (SAGRILLO et al., 2005; SWERDLOW et al., 2008).

Por mais de duas décadas, a imunofenotipagem por citometria de fluxo tem fornecido informações relevantes para o diagnóstico, classificação e monitoramento de neoplasias hematológicas. Em associação com cito/histomorfologia e genética molecular, a imunofenotipagem é crucial para a identificação, enumeração e caracterização de células de leucemia e linfoma. Similaridades imunofenotípicas entre células suspeitas e seus potenciais equivalentes normais, permite a atribuição de tais células para uma dada linhagem de células hematopoiéticas e do estágio de maturação, bem como a identificação de fenótipos aberrantes, tais como imunofenótipos associados à leucemia (VAN DONGEN, 2012).

Juntamente com a imunofenotipagem, a pesquisa genética é a ferramenta mais importante para o diagnóstico e prognóstico das LMAs, além de um ótimo guia para estratificação e planejamento em situações pós-remissão (BÉÑÉ et al., 1999; CERVERA et al., 2010). As técnicas mais utilizadas para a detecção da t(15;17) são a citogenética clássica, a transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e a hibridização *in situ* (*fluorescent in situ hybridization* - FISH). A técnica de FISH tem menor sensibilidade que a RT-PCR, porém é mais específica (JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008).

A citogenética clássica é uma metodologia altamente específica que permite a avaliação do cariótipo do paciente (Figura 7) com a vantagem de detectar alterações citogenéticas adicionais, o que possibilita a identificação dos subtipos mais raros de translocação do cromossomo 17, como a $t(11;17)(q23;q21)$, $t(11;17)(q13;q21)$ e $t(5;17)(q35;q21)$. No entanto, a sua realização necessita que as células estejam em metáfase, as quais devem ser ainda, de boa qualidade para que seja possível detectar as translocações, este processo requer muito tempo, o que muitas vezes retarda o início do tratamento do paciente (RIBEIRO; REGO, 2006; JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008).

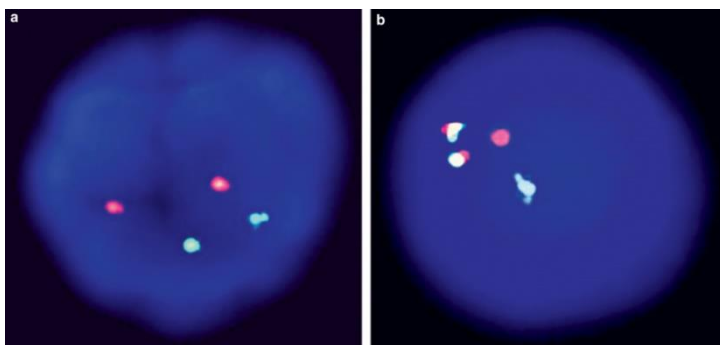
Figura 7 – Cariótipo característico da translocação $t(15;17)$



Fonte: Cedida pelo Laboratório Neurogene

A técnica de FISH permite a visualização de sequências específicas de ácidos nucleicos, no caso os genes PML e RAR α , em cromossomos metafásicos ou em núcleos interfásicos (Figura 8). Ela pode ser aplicada para determinar a origem clonal das leucemias, monitoramento da eficácia da terapia no tratamento, detectar a presença de doença residual mínima (DRM) e identificar recidiva da doença (SAGRILLO et al., 2005).

Figura 8 - Representação da detecção da mutação PML-RAR α pela técnica de FISH – *fluorescent in situ hybridization*



(a) Dois sinais vermelhos e verdes separados indicam a inexistência do rearranjo dos cromossomos 15q22 e 17q21. (b) Um padrão de sinal FISH positivo (1R1G2F) é ilustrado.

Fonte: Adaptado de WANG; CHEN, 2008.

Pela biologia molecular analisa-se o ácido ribonucleico (RNA) dos promielócitos leucêmicos com uso da técnica de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e também por PCR em tempo real (RQ-PCR). Para realização da RT-PCR, o RNA é extraído de amostras, recém coletadas, de MO ou de SP (JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008). Atualmente, a RT-PCR é o método mais utilizado para o diagnóstico da LPA, pois, permite a detecção de rearranjos gênicos do gene PML-RAR α . É um método útil não apenas para classificação, mas também para o monitoramento da doença residual mínima (DRM) após a remissão induzida pela terapia (REITER et al., 2004; JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008).

A imunofluorescência com anticorpos monoclonais anti-PML em esfregaços secos de medula óssea ou sangue periférico é útil para um diagnóstico rápido. Esta técnica é altamente específica para a presença de proteína de fusão PML-RAR α , indicada por um padrão de coloração microparticulado nos núcleos de células leucêmicas. Os resultados do ensaio de imunofluorescência podem ser obtidos em apenas 2 horas. Com isso, o ensaio é altamente recomendado para a rápida confirmação do diagnóstico da LPA e a identificação de forma eficaz dos pacientes com a fusão PML-RAR α , prevendo, assim, aqueles propensos a responder a terapia molecular alvo de ATRA ou ATO. Este

teste é particularmente valioso em pequenos centros, que não têm acesso a um laboratório de diagnóstico molecular, e nos casos em que o RNA não está disponível para realização do diagnóstico (LO-COCO; AMMATUNA, 2006; JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008).

3.3. Grupos de Risco na Leucemia Promielocítica Aguda

Os grupos cooperativos de estudo e pesquisa PETHEMA (espanhol) e GIMEMA (italiano) analisaram mais de 1400 pacientes portadores de LPA e observaram duas variáveis (a contagem de leucócitos e a de plaquetas) que, independentemente, foram capazes de prever recidiva. Os pacientes que apresentavam contagem plaquetária maior que $40 \times 10^9/L$ apresentavam menor taxa de recidiva, tanto molecular quanto hematológica. O mesmo foi observado para pacientes com menos que $10 \times 10^9/L$ leucócitos. Considerando-se esses valores, três grupos de risco foram estabelecidos: os de baixo risco, de risco intermediário e de alto risco. Com base nesses critérios de risco, foi estabelecida uma estratégia de tratamento intensificada para os pacientes de pior prognóstico (Quadro 4) (SANZ et al., 2000).

Quadro 4 - Critérios de risco para estratificação da leucemia promielocítica aguda

RISCOS	PLAQUETAS	LEUCÓCITOS	SOBREVIDA LIVRE DE RECIDIVA 3 ANOS
BAIXO	$>40 \times 10^9/L$	$\leq 10 \times 10^9/L$	98%
INTERMEDIÁRIO	$\leq 40 \times 10^9/L$	$\leq 10 \times 10^9/L$	89%
ALTO	-	$>10 \times 10^9/L$	70%

Fonte: Adaptado de SANZ et al., 2000.

3.4. Tratamento da Leucemia Promielocítica Aguda

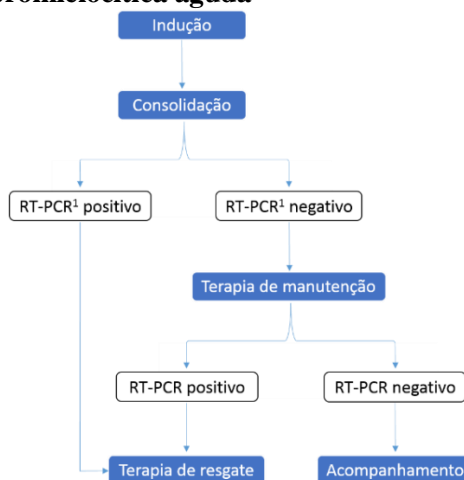
Nos últimos anos, o curso clínico da LPA passou de leucemia aguda rapidamente fatal para um dos subtipos mais curáveis de LMA. Este revolucionário progresso no tratamento da doença foi atribuído essencialmente aos notáveis avanços na farmacologia, mais especificamente com a introdução de novos agentes terapêuticos que atuam no alvo molecular, como: o ATRA (um derivado da vitamina A) e o ATO, os quais são considerados os primeiros exemplos de sucesso

de terapia alvo molecular baseado na indução da diferenciação e apoptose (AVVISATI et al., 2001; REITER et al., 2004; WANG; CHENG, 2008).

Ao contrário das outras leucemias, nas quais o tratamento é iniciado após o diagnóstico ser confirmado, o tratamento da LPA deve ser iniciado o quanto antes desde que haja uma suspeita clínica devido ao risco de óbito por coagulopatia (TALLMAN; ALTMAN, 2009).

O tratamento da LPA geralmente é dividido em três fases: a indução de remissão, a consolidação e a manutenção. As duas primeiras são fundamentadas no uso do ATRA e algum antracíclico (mitoxantrone, daunorrubicina ou idarrubicina) com escalonamento de dose e de intensidade, conforme estratificação de risco. Nos pacientes de alto risco é associado, nos ciclos de consolidação, doses intermediárias de citarabina (Ara-C), para evitar a alta possibilidade de recidiva, a qual fica em torno de 30% (SANZ et al., 2004). Após a terapia de indução e consolidação, a terapia de manutenção é administrada com o objetivo de aumentar a sobrevida livre de doença e é composta por ciclos de ATRA a cada três meses combinado ao metotrexato semanalmente e a mercaptopurina diariamente em baixas doses via oral por 24 meses (KANTARJIAN, 1987). A Figura 9 explica as diferentes fases de tratamento da LPA.

Figura 9 - Fluxograma esquemático de base para o tratamento de leucemia promielocítica aguda



¹ RT-PCR PML-RAR α : *real-time polymerase chain reaction* para gene de fusão PML-RAR α .

Estudos mostram que o efeito do tratamento sobre células leucêmicas pode ser otimizado quando o ATRA e a quimioterapia são administrados juntos ao invés de separadamente (TALLMAN et al., 2002; SANZ et al., 2004; ADÈS et al., 2010).

O principal medicamento utilizado, associado à quimioterapia baseada em antraciclinas é o ATRA (ZHOU et al., 2007). Esse fármaco, em altas doses, é responsável pela diferenciação dos promielócitos leucêmicos, conforme pode ser observado na Figura 10 (LO-COCO et al., 1999; WANG; CHENG, 2008). Pacientes com PML-RAR α respondem muito bem à terapia com ATRA devido à capacidade deste fármaco em desligar essa proteína anômala do receptor retinóide (RAR α), o que possibilita a descondensação da cromatina (OHNISHI, 2007; BAXTER, 2009). O ATRA atua diminuindo as propriedades pró-coagulantes e fibrinolíticas dos promielócitos leucêmicos, ajudando no controle da coagulopatia característica da LPA (ARBUTHNOT; WILDE, 2006).

Figura 10 - Diferenciação de promielócitos anormais induzida pelo tratamento com ATRA



Ao diagnóstico, há a presença dos promielócitos leucêmicos na com batonetes de auer Medula Óssea. A medida que o tratamento com o ácido all-trans retinóico (ATRA) via oral segue, os promielócitos vão gradativamente maturando. No trigésimo dia de tratamento, os bastonetes de Auer (seta) são encontrados em neutrófilos circulantes no sangue periférico (PB), indicando que estas células foram derivadas de promielócitos leucêmicos. BM: Medula óssea; ATRA: ácido all-trans retinóico.

Fonte: Adaptado de WANG; CHEN, 2008.

Como visto anteriormente, a oncoproteína de fusão PML-RAR α é alvo direto do ATRA, concentrações farmacológicas desse medicamento (10^{-6} - 10^{-7} M) levam à mudança conformacional na oncoproteína de

fusão, ocasionando a dissociação do complexo repressor e a associação de ativadores transcricionais, como as histonas acetiltransferases, levam ainda ao desbloqueio da transcrição nos genes alvo (CHEN et al., 1996; ZHANG et al., 2000; ZHOU et al., 2005). O ATRA também promove a degradação da oncoproteína de fusão PML-RAR α por caminhos diferentes, como, por exemplo, pela clivagem da oncoproteína de fusão na região da proteína PML, mediada por caspases (NERVI et al., 1998), ou pelo sistema proteolítico ubiquitina-proteossoma (VOM BAUR et al., 1996; WANG; CHENG, 2008). A degradação da PML-RAR α contribui para restauração da sinalização normal dos retinóides e das funções normais do complexo de multiproteínas do qual a PML faz parte (PML-NB); contudo, este evento é considerado tardio quando comparado com a modulação da atividade trans-regulatória da proteína de fusão (ZHOU et al., 2007). O ATRA também induz a monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), e, dessa forma, aumenta a diferenciação celular e altera o ciclo celular levando a uma parada no ciclo celular, inibição da angiogênese, diminuição da expressão do fator tecidual e aumento do potencial apoptótico. Consequentemente, o ATRA induz à diferenciação do promielócito leucêmico e o destina à morte celular programada (Figura 9) (ZHOU et al., 2005; ZHOU et al., 2007).

Estudos de grupos multicêntricos reportam um aumento na mortalidade precoce de 5% a 10% no primeiro mês do início do ATRA, principalmente devido a sangramento intracraniano. Entretanto, a incidência de mortalidade precoce ainda permanece desconhecida em estudos onde não ocorre a seleção de pacientes (PARK et al., 2011).

Apesar do ATRA ser um fármaco bem tolerado pela maioria dos pacientes, ele pode levar ao desenvolvimento da Síndrome do Ácido Retinóico (SAR) ou Síndrome de Diferenciação, a qual é potencialmente fatal (ADES et al., 2006). A SAR é uma complicação com risco de morte observada em cerca de 2-27% dos pacientes com LPA que recebem a terapia de indução com ATRA. A ativação da produção de citocinas inflamatórias (IL-1, TNF- α , IL- 6, IL-8, L-selectina e ICAM-1) por células de LPA após a exposição ao ATRA parece desempenhar um papel importante na SAR, cujos sinais clínicos incluem dispneia, febre inexplicável, ganho de peso, edema periférico, hipotensão, insuficiência renal aguda, insuficiência cardíaca congestiva, infiltrado pulmonar intersticial ou efusão pleuropericardial (CAMACHO ET AL., 2000; KWAAN; WANG; BOGGIO, 2002; JEDDI et al., 2011).

Mesmo com a excelente resposta ao ATRA em pacientes portadores de LPA associada ao PML-RAR α , que fica em torno de 80% e 90% de remissão completa (TALLMAN; ALTMAN, 2009), os

portadores de outras translocações envolvendo o RAR α apresentam sensibilidade variável a este fármaco e respostas distintas. Pacientes portadores do rearranjo PLZF-RAR α não respondem ao ATRA, já que doses farmacológicas desse medicamento não conseguem liberar o complexo repressor associado à porção aminoterminal do rearranjo envolvendo o PLZF, mantendo assim, a repressão da transcrição de genes necessários para diferenciação mieloide. Contudo, o uso do ATRA, associado com inibidores de histonas desacetilases pode não somente reverter a repressão da transcrição, como também permitir a diferenciação celular nesses pacientes (ZHOU et al., 2005). Casos de LPA associados com os outros rearranjos gênicos parecem responder ao ATRA (MELNICK; LICHT, 1999; REDNER et al., 2002; CATALANO et al., 2007; KONDO et al., 2008). Em casos onde não ocorrer a diminuição das células leucêmicas, outras opções devem ser propostas para o tratamento, como o Trióxido de Arsênio (ATO) e outros agentes diferenciadores.

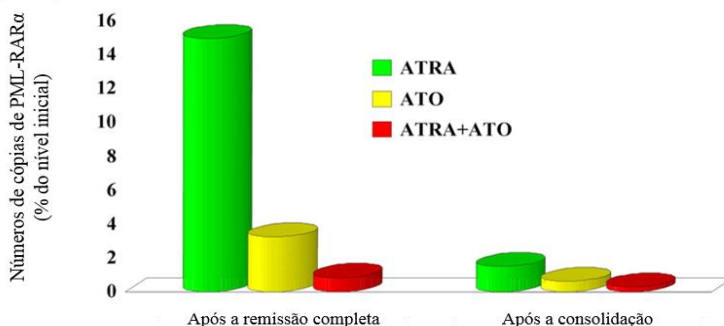
O ATO tem sido utilizado na terapia de recidivas e formas refratárias da doença. A combinação do uso do ATRA/ATO/quimioterapia a base de antraciclina tem permitido alcançar remissão molecular em aproximadamente 94% dos pacientes, com sobrevida livre de doença superior a 90% em cinco anos de diagnóstico (SOIGNET et al., 1998; ZHANG et al., 2000; FENAUX et al., 2001; MANDELLI et al., 2002; SANZ et al., 2004; DOUER; TALLMAN, 2005; SANZ, 2006; WANG; CHEN, 2008).

A oncoproteína de fusão PML-RAR α também é alvo direto do ATO. Trabalhos científicos indicam que a região rica em cisteína da oncoproteína de fusão PML é o principal alvo de interação com o ATO (CHEN et al., 2001; ZHOU et al., 2007). A ação desse fármaco nas células leucêmicas é dose dependente. Em baixas concentrações ($0.25-0.5 \times 10^{-6}$ M), ocorre indução da diferenciação parcial dessas células, e, em altas concentrações ($1-2 \times 10^{-6}$ M), ocorre indução da apoptose (ZHANG et al., 2000; LO-COCO; AMMATUNA, 2006; WANG; CHEN, 2008). Estudos com cultura de células sugerem que baixas concentrações de ATO causam aumento de acetilação de histonas H3 e H4, o qual é um processo favorável à transcrição gênica (CHEN et al., 2001). O ATO tem três mecanismos de ação principais: a produção de produtos reativos do oxigênio que induzem a fosforilação e ativação da via Jun-N-terminal Kinase (JNK), desencadeando apoptose; a fosforilação da PMLRAR α , levando à sua degradação; e a inibição da transcrição do gene hTERT com consequente diminuição da telomerase, a qual leva à fusão cromossômica e à apoptose (CHEN et

al., 1996; MULLER et al., 1998; MULLER et al., 2002; LALLEMAND-BREITENBACH et al., 2008; WANG; CHEN, 2008).

Pesquisas recentes têm demonstrado que o ATRA e o ATO atuam de forma sinérgica, aumentando a degradação da oncoproteína de fusão PML-RAR α e a apoptose, o que representa uma explicação plausível para os excelentes resultados observados na clínica com o uso da terapêutica baseada na combinação de ATRA/ATO com ou sem quimioterapia, como podem ser observados na Figura 11 (ZHOU et al., 2005; SANZ et al., 2005; JABBOUR et al., 2006; WANG; CHEN, 2008; LO-COCO et al., 2013).

Figura 11 - Resposta terapêutica de do ácido all-trans-retinóico, trióxido de arsênio e associação de ambos



ATRA: ácido all-trans retinóico; ATO: trióxido de arsênio; PML-RAR α : Fusão do locus gênico PML e RAR α .

O tratamento com ATRA conduz à eliminação das células positivas para PML-RAR α , comprovado pela concentração da detecção por RT-PCR (*real-time polymerase chain reaction*) de doença residual mínima. Efeitos do ATO e do ATRA em combinação com ATO também são apresentados.

Fonte: Adaptado de WANG; CHEN, 2008.

A complementação do tratamento pode ser feita com transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) alogênico para os pacientes com doador HLA idêntico ou TCTH autólogo. No último caso é mandatória a negatividade para a investigação da t(15;17) por RT-PCR para gene PML-RAR α antes do procedimento (SANZ et al., 1999; LO-COCO et al., 2003). O TCTH alogênico fica reservado a casos refratários e recidivados de difícil controle com fármacos, que persistem com o RT-PCR para gene PML-RAR α positivo, pois o TCTH alogênico apresenta alta incidência de mortalidade relacionada ao procedimento,

que fica em torno de 25 a 30%, dependendo do paciente e do seu doador (SANZ et al., 2007).

Além dessa terapêutica antileucêmica, medidas de suporte que visam o tratamento da coagulopatia e sangramentos são críticas para o sucesso do tratamento (SANZ; MONTESINOS, 2010). Na presença hemorragia grave, as medidas de suporte incluem transfusão de plasma fresco congelado, fibrinogênio, crioprecipitado e/ou plaquetas, que devem ser iniciados na primeira suspeita da doença, sem necessidade de confirmação do diagnóstico. Recomenda-se manter a contagem de plaquetas entre 30 a $50 \times 10^9/L$ e de fibrinogênio entre 100 a 150 mg/dL os quais devem ser monitorados pelo menos uma vez ao dia. Os parâmetros laboratoriais devem ser monitorados a cada 6 horas, até a completa resolução da coagulopatias, a citar: tempo de ativação da protrombina (TAP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), dosagem de fibrinogênio e contagem plaquetária. Procedimentos invasivos devem ser evitados antes e durante a terapia de indução, devido ao alto risco de hemorragia catastrófica. O precoce e agressivo manejo das infecções é crítico, pois a sepse pode contribuir independentemente para o desenvolvimento da CIVD (FALANGA; RICKLES, 2003; SANZ et al., 2009).

Em 2009, a Associação Médica *European Leukemianet* publicou algumas recomendações de diagnóstico, suporte e manejo de condições especiais como hiperleucocitose, síndrome do ATRA para LPA com seus respectivos níveis de evidência (SANZ et al., 2009), que seguem no Quadro 5 a seguir:

Quadro 5 - Recomendações de diagnóstico e manejo clínico

Recomendação	Nível de evidência	Grau de recomendação
Uma vez que há suspeita de um diagnóstico de LPA, a doença deve ser manejada como uma emergência médica.	IV	C
O diagnóstico deve ser confirmado pela detecção molecular de fusão PML-RAR α (ou variantes moleculares raras).	IIa	B
Além do cariótipo convencional, FISH, e RT-PCR, a imunofluorescência com anticorpo anti-PML pode ser utilizado para o diagnóstico rápido da LPA.	IIa	B
Manejo da coagulopatias		
O tratamento com ATRA deve ser iniciado imediatamente assim que o diagnóstico de LPA é suspetado.	Ib	A

Transfusão com plasma fresco congelado, fibrinogênio e/ou crioprecipitado e transfusões de plaquetas para manter a concentração de fibrinogênio e contagem de plaquetas acima de 100-150 mg/dL e $30-50 \times 10^9/L$, respectivamente.	IIb	B
O benefício de heparina, o ácido tranexâmico, ou outra terapia anticoagulante ou antifibrinolítica permanece questionável e não deve ser utilizada rotineiramente fora do âmbito dos ensaios clínicos.	IV	C
Manejo da hiperleucocitose (leucócitos $>10 \times 10^9/L$)		
A quimioterapia deve ser iniciada o mais rapidamente possível, mesmo que os resultados moleculares ainda estejam pendentes.	IV	C
Leucoaférese deve ser evitada devido ao risco de hemorragia fatal.	III	B
Esteroides profiláticos podem ser administrados, o que pode reduzir o risco do paciente desenvolver síndrome de diferenciação da LPA.	IV	C
Manejo da síndrome de diferenciação da LPA		
Esteróides (10 mg de dexametasona por via intravenosa) deve ser iniciado imediatamente, assim que a suspeita clínica de síndrome de diferenciação de LPA ocorrer. Uma vez que a síndrome tenha sido resolvida, os esteróides podem ser descontinuados e ATO/ATRA recomeçado.	IIa	B
Interrupção temporária da terapia de diferenciação (ATRA ou ATO) é indicado apenas em casos de síndrome de diferenciação de LPA grave.	IIa	B
Manejo de tratamento com ATO		
O tratamento com o ATO deve ser restrito a casos confirmados de ser PML-RAR α -positivo.	IIb	B
O tratamento com o ATO requer uma monitorização cuidadosa para manter eletrólitos na faixa normal, mantendo o potássio sérico acima de 4,0 mEq/L e de magnésio sérico acima de 1,8 mg/dL.	IV	C
O tratamento com o ATO requer uma monitorização cuidadosa do intervalo QT.	IV	C

ATRA: ácido all-trans retinóico; ATO: Trióxido de arsênio; PML-RAR α : Fusão do locus gênico PML e RAR α ; FISH: *fluorescent in situ hybridization*; RT-PCR: *real-time polymerase chain reaction*.

Nível de evidência: Ia - Evidências obtidas de metáanalises de ensaios clínicos controlados randomizados; Ib - Evidências obtidas de pelo menos um ensaio clínico controlado; IIa – Evidências obtidas de pelo menos um estudo controlado bem concebido sem randomização; IIb – Evidências obtidas de pelo menos um outro tipo de estudo tipo quase-experimental bem concebido; III – Evidências obtidas de estudos descritivos bem concebidos, tal como estudos comparativos, estudos de correlação, e casos de estudo; IV – Evidências obtidas de relatório de comissões de especialistas ou opiniões e/ou experiências clínicas de autores respeitados. Grau de recomendação: A - Requer pelo menos um estudo randomizado controlado, como parte de um corpo de literatura de boa qualidade e coerência global abordando recomendação específica (nível de evidência Ia e Ib); B - Requer a disponibilidade de estudos clínicos bem conduzidos, mas há ensaios clínicos randomizados sobre o tema da recomendação (níveis de evidência IIa, IIb e III); C - Requer provas obtidas a partir de relatórios ou de pareceres e/ou experiências clínicas de autoridades respeitadas do comitê de especialistas. Indica uma ausência de estudos clínicos diretamente aplicáveis de boa qualidade (nível de evidência IV).

Fonte: SANZ et al., 2009.

3.5. Fatores Prognósticos da Leucemia Promielocítica Aguda

Muitos esforços têm sido feitos para identificar fatores prognósticos para morte em LPA e transformá-la em uma doença curável. A contagem sanguínea de leucócitos é um fator prognóstico bem conhecido e importante, já descrito pelos grupos PETHEMA e GIMEMA em 2000, que oferecem um guia para o tratamento, especialmente para pacientes em alto risco.

Devido ao fato de possuírmos uma heterogeneidade em nossa população e maior incidência de LPA que em outros países, nos dá um motivo de interesse para o estudo e pesquisa destes fatores prognósticos, para melhorar a resposta dos pacientes, por meio da identificação das diferenças existentes entre eles.

Alguns estudos recentes tentaram identificar novos fatores prognósticos e novos modelos que tenham influência sobre a LPA, tais como: a dosagem de hemoglobina, a porcentagem de blastos, a expressão de CD34 detectada por imunofenotipagem, a presença da mutação FLT3, a presença do transcrito PML do tipo bcr3, a presença de anormalidades cromossômicas adicionais (ACA), a hemorragia grave, o alto *score* de CIVD ou a LPA hipogranular (HIORNS et al., 1997; NOGUERA et al., 2002; DELLA-PORTA, 2006; LO-COCO, 2006; VOVES; WUILLEMIN; ZEERLEDER, 2006; WANG; CHEN, 2008;

SANZ et al., 2009; CERVERA et al., 2010; BRECCIA et al., 2013; PARK et al., 2013).

O *score* de CIVD tem sido aplicado a pacientes com LPA, como uma tentativa de identificar pacientes com alto risco para sangramento, especialmente hemorragia grave, e, dessa forma, evitar a alta mortalidade precoce, pois, pacientes de *scores* altos poderiam ser intervindos mais agressivamente. Esse *score* CIVD foi inicialmente criado para pacientes criticamente doentes, em unidades de terapia intensiva, mas dentre os inúmeros fatores risco, ainda não se sabe qual é o ponto de corte ideal para pacientes com associação de CIVD e leucemia, que apresentam plaquetopenia, que poderia influenciar no desfecho clínico (CHANG et al., 2012; MITROVIC et al., 2013).

A LPA hipogranular tem sido associada com características biológicas únicas, incluindo a hiperleucocitose na apresentação, a frequente expressão do CD2 e CD34 e a mutação do FLT3-DIT (MCKENNA et al., 1982; BIONDI et al., 1995; FOLEY et al., 2001; GALE et al., 2005; TALLMAN et al., 2010; BRECCIA et al., 2010). A mutação FLT3 tem sido encontrada em até 75% dos casos de LPA hipogranular *versus* 23% da LPA clássica, mostrando que existem diferenças moleculares entre os tipos de LPA (HAFFERLACH et al., 2005; SCHNITTGER et al., 2011). Historicamente, quando tratada com quimioterapia convencional a LPA hipogranular tem sido associada com uma alta incidência de morte precoce, mas não necessariamente com pior desfecho quando comparada com a LPA clássica. Poucos estudos na era do ATRA têm sido realizados em relação à resposta terapêutica, mas não se justifica a realização de um tratamento diferenciado da LPA clássica (BASSAN et al., 1995; TALLMAN et al., 2010).

O gene *FLT3*, localizado no cromossomo 13q12, codifica um receptor tirosina-cinase de classe III, que é composto por um domínio extracelular, um domínio justamembranar e um domínio tirosina-cinase altamente conservado (LICÍNIO; SANTOS-SILVA, 2010; TAKAHASHI, 2011). Esse receptor está envolvido na diferenciação e na proliferação celular e é normalmente expresso nas células tronco hematopoiéticas (SMALL, 2008; SWERDLOW et al., 2008; DALAL et al., 2012). No entanto, após a diferenciação do progenitor, o FLT3 é rapidamente suprimido e por isso, ele não é normalmente expresso em células hematopoiéticas diferenciadas (SWERDLOW et al., 2008; DALAL et al., 2012). Quando o gene FLT3 sofre mutação, dá origem a um produto final modificado, ou seja, gera um receptor com alterações estruturais. As mutações mais comuns encontradas no gene FLT3 são de dois tipos: DIT e mutações pontuais (mais frequente, a D835) (REINDL

et al., 2006).

A DIT no gene FLT3, que é uma das mutações mais comuns em doenças hematológicas malignas, ocorre em leucemia mieloide crônica (LMC) (5-10%), em síndrome mielodisplásica (5-10%), em LMA (15-45%) e em LLA (5-10%) (KIYOI et al., 1999; KOTTARIDIS et al., 2001; GALE et al., 2007). A mutação FLT3-DIT ocorre frequentemente em pacientes com LPA com t(15;17), em torno de 35-40% (KOTTARIDIS et al., 2001). Além disso, a literatura descreve que as mutações FLT3-DIT em pacientes com LPA estão associadas à presença de leucocitose, LPA hipogranular, tipo de transcrito bcr3 e a maior porcentagem de blastos (GALE et al., 2005; MRÓZEK et al., 2007; CHILLON et al., 2010).

Em LPA, a expressão do CD34 é clinicamente associada com leucocitose, LPA hipogranular, com a co-expressão de CD2 e a presença do transcrito bcr3, os quais são conhecidos como marcadores de mau prognóstico (FOLEY et al., 2001). Recentes estudos sugerem a significância clínica da expressão do CD34 em certos subtipos de LMA, como a LMA com translocação t(8;21) e na LPA, mas seu papel prognóstico definitivo ainda precisa ser estabelecido (KANDA *et al.*, 2000; DELLA PORTA et al., 2006).

3.6. Consórcio Internacional da Leucemia Promielocítica Aguda

O Consórcio Internacional da LPA (IC-APL) foi estabelecido em 2005 como uma iniciativa de membros do comitê internacional da Sociedade Americana de Hematologia. A proposta foi criar uma integração de instituições nos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento para trocar experiência e dados, em contrapartida, receber suporte de grupos cooperativos bem estabelecidos dos Estados Unidos e da Europa. A partir disso, o IC-APL formulou diretrizes de tratamento baseadas em protocolos de sucesso e adaptou-as com as condições locais e recursos. Essas diretrizes contemplaram medidas padrões para o rápido e específico diagnóstico, tratamento, tratamento de suporte e acompanhamento dos pacientes com LPA. Atualmente, o projeto inclui 4 países latino-americanos: Brasil, México, Uruguai e Chile, sendo o Brasil o coordenador central e o que contribui com o maior número de casos para estudo. No Brasil participam do grupo 8 centros, dentre esses, 4 coordenadores nacionais, laboratório central, programa de treinamento clínico e laboratorial e 5 subcomitês. O IC-APL mostrou que mesmo usando recursos limitados, é possível reduzir a lacuna entre países desenvolvidos e em desenvolvimento, melhorando

os resultados do tratamento da LPA e a qualidade dos cuidados aos pacientes (JÁCOMO; FIGUEREDO-PONTES; REGO, 2008; REGO et al., 2012; REGO et al., 2013). Rego e colaboradores publicaram em 2013, um estudo que mostra um aumento de quase 30% na sobrevida global dos pacientes incluídos no IC-APL.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1. Pacientes

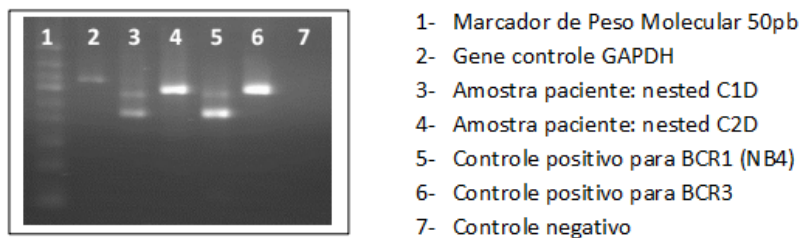
Foram incluídos no estudo todos os pacientes adultos, de ambos os gêneros portadores de leucemia promielocítica aguda (LPA) diagnosticados e tratados no Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU-UFSC) entre janeiro de 2001 e julho de 2013 que concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme Comitê de Ética de Pesquisa em Seres Humanos da UFSC (apêndices 1 e 2), foram avaliados retrospectivamente.

Os pacientes tiveram seus prontuários e exames analisados conforme a documentação disponível no Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME), sendo o estudo desenvolvido na própria instituição. Os prontuários foram selecionados de acordo com o código internacional de doenças (CID) correspondente ao da LPA (C92.4) na base de dados do hospital, durante o período de janeiro de 2001 a julho de 2013. Os resultados de exames não encontrados no prontuário foram buscados no Laboratório Neurogene (Florianópolis/SC), no HEMOSC (Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Santa Catarina) e no Serviço de Análises Clínicas do Hospital HU-UFSC.

4.2. Diagnóstico da Leucemia Promielocítica Aguda

O diagnóstico de LPA foi baseado nas características clínicas, na avaliação morfológica, no imunofenótipo, na citogenética e em estudos de genética molecular, de acordo com os critérios de Classificação de Tumores Hematopoiéticos e Tecidos Linfoides da Organização Mundial da Saúde (OMS) (SWERDOLW et al., 2008). A confirmação diagnóstica foi realizada pela reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR), conforme relatado pelo BIOMED-1 *Programme* (VAN DONGEN et al., 1999), sendo o tipo do produto de fusão PML-RAR α (quebra PML em bcr1, bcr2 e bcr3) determinado pelo tamanho do produto da RT-PCR. (Figura 12).

Figura 12 - Demonstração de uma investigação de t(15;17) por RT-PCR



Amostra 3 condiz com o transcrito bcr1 e a amostra 4 condiz com o transcrito bcr3.

Fonte: Divisão de biologia molecular do laboratório de Análises Clínicas do HU-UFSC

O imunofenótipo das células neoplásicas foi avaliado em todos os casos por citometria de fluxo multiparamétrica, depois da lise de eritrócitos, de acordo com o estabelecido pela OMS (JAFFE et al., 2001) até 2012. Após 2012, foi usado o padrão *Euroflow* com painel de anticorpos (VAN DONGEN et al., 2012) para a triagem de leucemias agudas, conforme Tabela 1 e para caracterização do subtipo de leucemia aguda, conforme Tabela 2 abaixo:

Tabela 1 - Triagem Leucemias Agudas

FITC	PE	PercP-Cy5.5	Pe-Cy7	APC	APC-H7	V450	V500
CD8	CD56	CD34	CD19	CD3	CD38	CD20/CD4	CD45
MPO cito	CD79a cito	CD34	CD19	CD7	CD3	CD3 cito	CD45

CD: *cluster of differentiation*; MPO: mieloperoxidase

Fonte: Adaptado de VAN DONGEN et al., 2012

Tabela 2 - Expansão na suspeita de leucemia mieloide aguda

FITC	PE	PercP-Cy5.5	Pe-Cy7	APC	APC-H7	V450	V500
CD16	CD13	CD34	CD117	CD11b	CD10	HLA-DR	CD45
CD35	CD64	CD34	CD117	CD300e	CD14	HLA-DR	CD45
CD36	CD105	CD34	CD117	CD33	CD71	HLA-DR	CD45
TDT cito	CD56	CD34	CD117	CD7	CD19	HLA-DR	CD45
CD15	7.1	CD34	CD117	CD22	CD38	HLA-DR	CD45
CD42a/CD61	CD203c	CD34	CD117	CD123	CD4	HLA-DR	CD45
CD41	CD25	CD34	CD117	CD42b	CD9	HLA-DR	CD45

CD: *cluster of differentiation*

Fonte: Adaptado de VAN DONGEN et al., 2012.

4.3. Estratificação de Risco

Os pacientes foram estratificados em três grupos de risco de acordo com *Sanz et al* (sistema PETHEMA, 2000): alto risco (AR) com leucócitos $> 10 \times 10^9/L$; risco intermediário (RI) com plaquetas $\leq 40 \times 10^9/L$ e leucócitos $\leq 10 \times 10^9/L$; baixo risco (BR) com plaquetas $> 40 \times 10^9/L$ e leucócitos $\leq 10 \times 10^9/L$. Além dessa estratificação para o uso na análise estatística, foi criado um grupo de estudo com plaquetas inferior a $20 \times 10^9/L$.

Além dessa estratificação, os pacientes foram classificados segundo a escala de performance *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG), conforme as características apresentadas no quadro 6:

Quadro 6 - *Performance status* ECOG

0	Completamente ativo; capaz de realizar todas as suas atividades sem restrição
1	Restrição a atividades físicas rigorosas; é capaz de trabalhos leves e de natureza sedentária
2	Capaz de realizar todos os autocuidados, mas incapaz de realizar qualquer atividade de trabalho; em pé aproximadamente 50% das horas em que o paciente está acordado
3	Capaz de realizar somente autocuidados limitados, confinado ao leito ou cadeira mais de 50% das horas em que o paciente está acordado
4	Completamente incapaz de realizar autocuidados básico, totalmente confinado ao leito ou à cadeira
5	Morte iminente

ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*

Fonte: Adaptado de OKEN et al., 1983.

O distúrbio da coagulação foi considerado quando os pacientes apresentavam prolongamento do tempo de atividade de protrombina (TAP) e/ou tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa).

O diagnóstico de coagulação intravascular disseminada (CIVD) foi realizado de acordo com as recomendações da Sociedade Internacional em Trombose e Hemostasia. O *score* de CIVD foi calculado com base nos autores Toh e Hoots e apresentado no quadro 7. Os pacientes com *score* de CIVD ≥ 6 foram considerados como casos evidentes de CIVD em pacientes com LPA.

Quadro 7 - *Score* para coagulação intravascular disseminada

CRITÉRIOS ANALISADOS	RESULTADOS	SCORE
CONTAGEM DE PLAQUETAS	$> 100 \times 10^9/L$	0
	$100-50 \times 10^9/L$	1
	$< 50 \times 10^9/L$	2
D-DÍMERO	Sem aumento (até $250 \mu g/L$)	0
	Aumento moderado (2-4 vezes o valor normal)	2
	Forte aumento (> 4 vezes o valor normal)	3
TEMPO DE PROTROMBINA (TAP)	$< 3s$	0
	3 a 6s	1
	$> 6s$	2
FIBRINOGÊNIO	> 1 (normal: 2-4 g/L)	0
	< 1	1

Score ≥ 6 compatível com CIVD, repetir *score* diariamente; *Score* < 6 : baixa probabilidade de CIVD

Fonte: Adaptado de TOH; HOOTS, 2007.

4.4. Protocolo terapêutico

A terapia com ATRA (45 mg/m^2 via oral até remissão completa) foi iniciada o mais rápido possível, após o diagnóstico presuntivo de LPA baseado nas características imunofenotípicas, citomorfológicas e clínicas.

Entre 2001 e 2004, o protocolo de tratamento de indução baseava-se na associação do ATRA, conforme citado anteriormente, com quimioterapia 7+3: antranciclina (IDA: idarrubicina 12 mg/m^2 , DNR: daunorrubicina 60 mg/m^2 ou MTZ: mitoxantrone 10 mg/m^2) endovenoso (EV) por 1 hora nos dias 2, 4 e 6 e citarabina (Ara-C) $100 \text{ mg/m}^2/\text{dia}$ EV em infusão contínua nos dias 1 ao 7. Após 2004, o protocolo de indução foi reduzido para uma antraciclina nos dias 2, 4, 6 e 8 mais ATRA, conforme algoritmo de tratamento proposto por IC-APL em 2006.

Ao atingir a remissão completa, 3 a 4 ciclos de quimioterapia pós-remissão foram administradas aos pacientes, contendo MTZ, DNR ou IDA com ATRA 45 mg/m^2 por 15 dias cada ciclo. Nesse caso, ao grupo de alto risco foi adicionada uma dose intermediária (1.000 mg/m^2 nos dias 1, 2, 3 e 4) de Ara-C. A terapia de manutenção foi realizada durante dois anos com: ATRA 45 mg/m^2 via oral por 15 dias a cada 3 meses, metotrexato 15 mg/m^2 via oral semanalmente e mercaptopurina 50 mg/m^2 via oral diariamente, verificando possíveis toxicidades. Para

recidiva hematológica e extramedular foi necessário um novo ciclo de quimioterapia (7+3).

Com o avanço das técnicas moleculares e acesso ao ATO, os pacientes com recidiva molecular, que apresentam doadores HLA compatíveis, receberam ATO por 30 doses consecutivas de indução e 20 doses para consolidação. Os pacientes que não apresentaram doador HLA compatível, após a terapia com ATO, foram encaminhados para o transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH).

A cada 3 a 6 meses, a presença da translocação PML-RAR α foi analisada pela técnica molecular RT-PCR nas amostras dos pacientes. Este procedimento foi mantido por 1 ano após o término de qualquer tratamento.

Foram seguidas as diretrizes do *European LeukemiaNet* para o tratamento de suporte de pacientes com LPA (SANZ et al., 2009) e diretrizes de tratamento da neutropenia febril em pacientes oncológicos (FREIFELD et al., 2011). Para a manutenção da contagem plaquetária acima de $30 \times 10^9/L$ e fibrinogênio acima de 150mg/dL foram transfundidas plaquetas e crioprecipitado, respectivamente.

A síndrome do ATRA (SRA), quando ocorreu foi conduzida da seguinte forma: redução da dose em 50%, suspensão do ATRA e/ou uso de dexametasona 10mg/12h endovenoso por 3 a 5 dias até a resolução dos sintomas.

Para os pacientes que apresentaram infiltração leucêmica no SNC foi adicionado ao tratamento a quimioterapia intratecal (MADIT – Metotrexato, Dexametasona e Ara-C) até completa depuração dos blastos no líquido, seguido de 6 intratecais como consolidação.

4.5. Definição de Resposta

As principais variáveis de resposta ao tratamento foram consideradas: remissão completa, sobrevida global, sobrevida livre de doença, sobrevida livre de eventos, recidiva, índice cumulativo de recidiva e mortalidade.

A remissão completa foi definida pelo conjunto dos critérios: contagem absoluta de neutrófilos $>1.500/mm^3$, contagem plaquetária $>100 \times 10^9/L$, ausência de blastos leucêmicos no sangue periférico; na medula óssea, celularidade $>20\%$ com maturação de todas as linhagens e contagem inferior a 5% de blastos ou promielóctos característico; somado a ausência do rearranjo PML-RAR α por avaliação em RT-PCR no final da consolidação.

A sobrevida global foi mensurada como o intervalo compreendido, em dias, entre a data do diagnóstico e a data da última consulta ou óbito por qualquer causa, ou o que tiver aparecido primeiro. A sobrevida livre de doença estimada engloba o intervalo compreendido, em dias, entre a obtenção da remissão completa e a eventual recidiva. A sobrevida livre de eventos foi definida como o período em dias, entre a data do diagnóstico e a recidiva, o óbito, ou o que tiver ocorrido antes.

A recidiva pode ser considerada como recidiva hematológica, recidiva molecular e recidiva extramedular. A recidiva hematológica foi definida como o reaparecimento de blastos leucêmicos/promielócitos no sangue periférico ou em número igual ou superior a 5% na medula óssea, na ausência de outras causas (como, por exemplo, regeneração medular após quimioterapia). A recidiva molecular consiste no reaparecimento da positividade para o rearranjo do PML-RAR α por RT-PCR em duas amostras consecutivas de medula óssea em qualquer período da terapia de consolidação ou manutenção. A recidiva extramedular foi determinada com a documentação de infiltração leucêmica em outros tecidos, como por exemplo, SNC, na pele e baço (TALLMAN, 2005; SANZ, 2009).

A mortalidade foi avaliada de forma global e considerada como mortalidade precoce (MP), o óbito nos primeiros 30 dias após o diagnóstico, independente se iniciou o tratamento ou não.

O índice cumulativo de recidiva hematológica considerado consiste na relação entre o número de pacientes recidivados e o número de pacientes em remissão completa morfológica, multiplicado por 100.

4.6. Análise Estatística

A significância estatística foi considerada para valores de $p \leq 0,05$, pelo teste de qui-quadrado de Pearson e pelo teste exato de Fisher usado para analisar a associação entre variáveis nominais. Para as variáveis numéricas foi utilizado o teste de Mann-Whitney com uma associação direta ou inversamente proporcional. As curvas de sobrevida foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier. A análise multivariada seguiu o modelo de regressão de Cox para o evento morte e regressão logística para análise da resposta terapêutica. Para análise de resposta, o modelo utilizado foi: sepse, performance status, valores elevados de lactato desidrogenase (LDH), hemoglobina $<10\text{g/dL}$, *score* de CIVD ISTH ≥ 6 , baixo risco, risco intermediário, alto risco e expressão de CD34 no imunofenótipo. As variáveis para a análise do evento morte

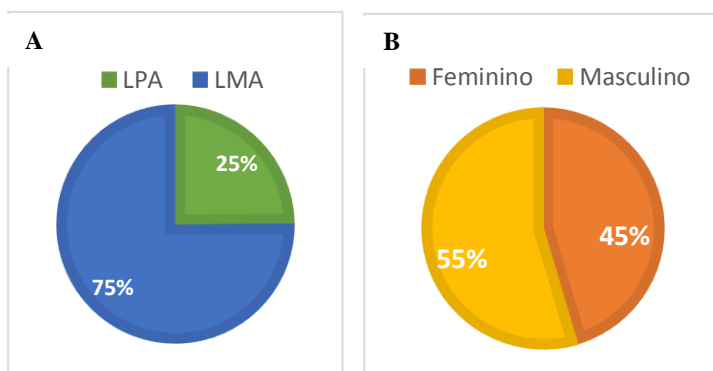
pela multivariada de Cox foram categorizadas, como seguem: presença de sepse, distúrbio da coagulação, presença de hemorragia grave, altos valores de lactato desidrogenase (LDH), hemoglobina $\leq 10\text{g/dL}$, plaquetas $\leq 20 \times 10^9/\text{L}$, e neutrófilos $\leq 500/\text{mm}^3$, *score* de CIVD ISTH ≥ 6 , alto risco, expressão de CD34, anormalidades cromossômicas adicionais (ACA), LPA hipogranular e recidiva. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS17.0).

5. RESULTADOS

5.1. Características Clínicas, Laboratoriais e Sócio demográficas dos Pacientes

Foram incluídos no estudo, 44 pacientes com diagnóstico de LPA no período entre 2001 e 2013. Do total de casos de LMA, a LPA representou, em nossa instituição, 25% (Figura 13). Dos 44 pacientes, 24 eram do gênero masculino (54.5%) e 20 do gênero feminino (45.5%) (Figura 13). A idade média foi de 34 anos (variação 15-58 anos), mais de 90% dos casos estudados apresentavam idade inferior a 55 anos. Em relação à procedência dos participantes do estudo, 32 (72,7%) eram do interior do estado de Santa Catarina e os demais moradores da Grande Florianópolis (Tabela 4).

Figura 13 - Distribuição dos pacientes com diagnóstico de leucemia mieloide aguda



A – Distribuição dos pacientes com diagnóstico de LMA segundo o subtipo de LMAs; Painel B – Distribuição dos pacientes com diagnóstico de LPA segundo o gênero.

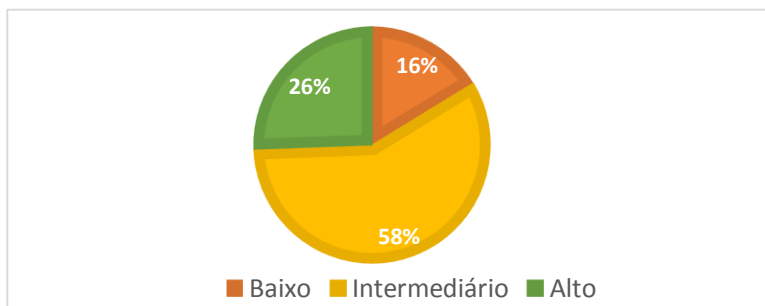
Segundo o grau de instrução, os pacientes tinham cursado, predominantemente o ensino fundamental (77,3%), seguido de ensino médio (11,4%), ensino superior (2,3%) e 9% se declaravam analfabetos. Quanto ao perfil socioeconômico, se observou que a maioria exercia atividades agrícolas (20,5%), seguido das atividades do lar (15,9%) e 11,4% eram estudantes, entre outros.

Em relação às características comportamentais, 13,6% pacientes relataram consumo diário de bebidas alcoólicas e 6,8% o uso de drogas ilícitas, como maconha, *crack* e cocaína (Tabela 4).

Observou-se em 14 (31,8%) pacientes a presença de comorbidades, sendo as mais frequentes, as doenças cardiovasculares (20,5%), como hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias, além de doenças relacionadas à glândula tireóide, diabetes, insuficiência renal crônica, lúpus eritematoso sistêmico, pancreatite crônica, obesidade mórbida, sintomas depressivos e déficit cognitivo. Todos os pacientes não apresentaram soro reatividade para HIV e somente um caso estudado foi reagente para testes sorológicos de sífilis, hepatites B e C (Tabela 4).

Conforme os critérios sugeridos por Sanz e colaboradores em 2000, sete (16,3%) pacientes foram incluídos no grupo de baixo fator de risco, 25 (58,1%) no grupo de fator de risco intermediário e 11 (25,6%) no grupo de alto risco (Figura 14).

Figura 14 - Distribuição dos pacientes conforme estratificação de risco



A estratificação de risco foi realizada de acordo com os critérios de SANZ et al., 2000.

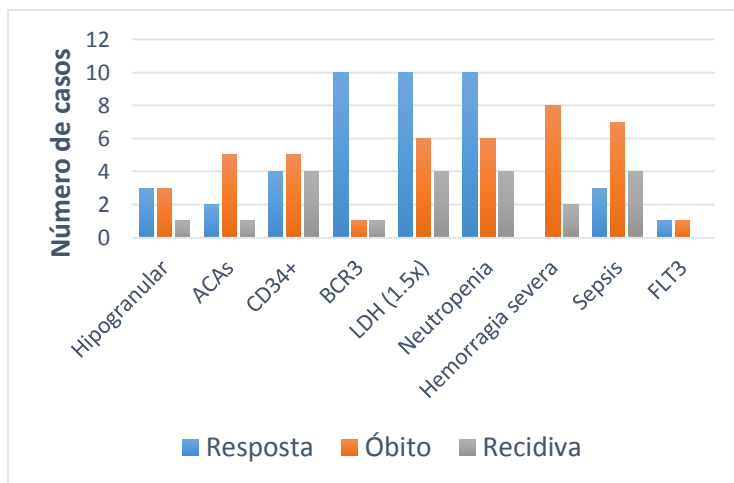
Quanto aos marcadores sugestivos de mau prognóstico, 13,6% dos pacientes apresentaram a LPA hipogranular; 15,9%, anormalidades cromossômicas adicionais (ACA); 27,3%, expressão do imunofenótipo CD34+; 27,3%, presença do transcrito PML-RAR α tipo bcr3; 50,0%, alta atividade enzimática de LDH ($\geq 1.5x$ normal); 45,5%, presença de neutropenia e 27,3% dos pacientes, sepse (Figura 15). Além dos marcadores anteriores, 17 pacientes realizaram a pesquisa da mutação FLT3 (DIT ou D835), sendo que somente dois foram positivos (Tabela 4).

Dentre as anormalidades cromossômicas adicionais, 11,4% apresentavam deleção do cromossoma 7; 6,8%, trissomia do cromossoma 8 e 2,3% apresentaram cromossoma em anel, ou deleção do

cromossoma 5, ou trissomia do cromossoma 13, ou hipoploidia; alguns pacientes apresentaram mais de uma alteração cromossômica.

A Figura 15 mostra os diferentes desfechos, como resposta terapêutica, óbito ou recidiva da doença, e as suas frequências em relação aos fatores sugestivos de mau prognóstico.

Figura 15 - Gráfico da relação entre os fatores de risco e o número de casos em relação ao desfecho clínico

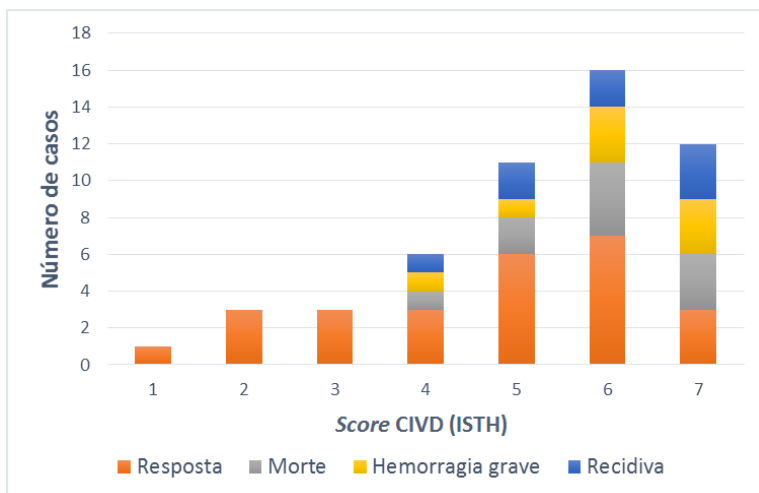


ACA: anormalidades citogenéticas adicionais; CD: *cluster of differentiation*; bcr3: Sítio de ponto de quebra 3; LDH: desidrogenase láctica; FLT3: Tirosina cinase 3 semelhante a FMS.

5.2. Coagulopatia e Score CIVD

Em relação à coagulopatia, 20 (45,5%) apresentavam distúrbio da coagulação e 50,0% de todos os pacientes do estudo tinham um *score* de CIVD maior que 6 no momento do diagnóstico. Mais de 90% dos pacientes possuíam algum tipo de distúrbio hemorrágico. A hemorragia grave considerada em pulmões, abdômen e SNC, foi observada em 8 (18,2%) dos pacientes (Tabela 4).

A Figura 16 apresenta uma comparação dos diferentes *scores* de CIVD aplicados nos pacientes no momento da admissão e analisados conforme os desfechos: recidiva da doença, morte, hemorragia grave e resposta ao tratamento.

Figura 16 - Score de CIVD e desfecho clínico

CIVD: coagulação intravascular disseminada; ISTH: *International Society of thrombosis and hemostasis*.

5.3. Parâmetros Hematológicos

Como pode ser observado na Tabela 3, 81,8% dos pacientes foram considerados anêmicos, com mediana da concentração de hemoglobina de 7,8 g/dL; 75% apresentaram leucometria inferior a $10 \times 10^9/L$ e 45% tinham neutropenia ($<500/mm^3$). Do total de pacientes analisados, 84% apresentavam plaquetas $\leq 40 \times 10^9/L$ e 40,9% com plaquetas $\leq 20 \times 10^9/L$. Além disso, todos os pacientes tinham a presença de promielócitos leucêmicos (blastos) no sangue periférico, com uma mediana de 29,5% no total de células contadas.

Tabela 3 - Parâmetros hematológicos e contagem de células sanguíneas

Variáveis	Mediana (máximo - mínimo)
Hemoglobina (g/dL)	7,8 (4,8 – 12,6)
Leucócitos ($\times 10^9/L$)	3,8 (0,3 – 89,4)
Neutrófilos (/mm ³)	500,0 (50,0 – 12.000,0)
Blastos (%)	29,5(2,0 – 91,0)
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	22,0 (0,02 – 83,0)

5.4. Tratamento

Todos os participantes do estudo eram candidatos ao tratamento curativo; desses, 41 receberam ATRA precocemente e 3 não receberam, pois foram a óbito por morte precoce. Quanto ao protocolo de tratamento, 3 pacientes receberam a terapia de indução pelo esquema de quimioterapia 7+3 associada ao ATRA e 38 pacientes receberam o esquema de quimioterapia com antraciclina associada ao ATRA. A terapia de consolidação foi administrada igualmente para 36 pacientes com 3 a 4 ciclos de quimioterapia com antraciclina associada ao ATRA. Para os pacientes de alto risco foi adicionado Ara-C (18,2%). A terapia de manutenção foi mantida por 24 meses, mesmo com efeito adverso de aplasia de medula óssea transitória em todos os pacientes, porém 3 pacientes precisaram antecipar o término do tratamento por apresentarem insuficiência cardíaca congestiva com necessidade de tratamento específico e hepatotoxicidade com alterações nas enzimas hepáticas e necessidade de tratamento de suporte. Dois pacientes abandonaram o tratamento, sendo que um deles foi a óbito devido à recidiva seguido de progressão da doença e outro apresentou subsequentes recidivas da doença (Tabela 4).

Um paciente masculino, de 47 anos, classificado como alto risco, apresentou infiltração leucêmica no SNC e foi tratado com quimioterapia intratecal associada com terapia convencional, obtendo boa resposta.

Dos pacientes que efetuaram o tratamento, 2 apresentaram recidiva hematológica e 1 apresentou tanto recidiva hematológica quanto extramedular (baço), necessitando a realização de terapia de re-indução com esquema de tratamento com quimioterapia 7+3 associada ao ATRA (Tabela 4).

Além das recidivas hematológicas, relatou-se que 4 (9,1%) pacientes demonstraram recidiva molecular. Todos foram tratados com

ATO e a cada 3 meses a presença da t(15;17) foi monitorada por RT-PCR. Dentre os pacientes que não tinham doador HLA compatível, acrescentou-se o TCTH autólogo como terapia de resgate, enquanto para os que tinham doador HLA compatível, optou-se por mantê-los em observação devido ao alto risco de mortalidade associado ao TCTH alógeno (Tabela 4).

A tabela 4 mostra sumariamente as características gerais dos pacientes com diagnóstico de LPA estudados.

Tabela 4 - Características gerais dos pacientes com leucemia promielocítica aguda

Variáveis	n: 44 (100%)
Idade (Mediana:34,5;15-58)	
15-55 anos	40 (90,9%)
> 55 anos	4 (9,1%)
Sorologia positiva*	
Sim	1 (2,3%)
Não	43 (97,7%)
Comorbidades	
Sim	14 (31,8%)
Não	30 (68,2%)
Comorbidades cardiovasculares	
Sim	9 (20,5%)
Não	35 (79,5%)
Consumo de álcool	
Sim	6 (13,6%)
Não	38(86,4%)
Uso de drogas ilícitas	
Sim	3 (6,8%)
Não	41 (93,2%)
Sintomas depressivos	
Sim	8 (18,2%)
Não	36 (81,9%)
Performance status (0-5)	
0-1	12 (27,3%)
2-3	32 (72,7%)
Neutropenia ($\leq 500\text{mm}^3$)	
Sim	20 (45,5%)
Não	24 (54,5%)

Variáveis	n: 44 (100%)
Presença de distúrbios da coagulação	
Sim	20(45,5%)
Não	24 (54,5%)
LPA variante ou hipogranular	
Sim	6 (13,6%)
Não	38 (86,4%)
CIVD <i>Score</i> ≥ 6	
Sim	22 (50,0%)
Não	22 (50,0%)
Presença de febre	
Sim	9 (20,5%)
Não	35 (79,5%)
LDH ($\geq 1.5x$ normal)	
Sim	20 (45,5%)
Não	24 (54,5%)
RT-PCR t(15;17)	
Sim	37 (84,1%)
Não	4 (9,1%)
Não realizado	3 (6,8%)
Grupo de risco	
Baixo	7 (15,9%)
Intermediário	26 (59,1%)
Alto	11 (25,0%)
Citogenética t(15;17)	
Sim	26 (59,1%)
Não	16 (36,3%)
Não realizado	2 (4,5%)
Imunofenótipo para CD34	
Positivo	12 (27,3%)
Negativo	32 (72,7%)
Imunofenótipo para CD2	
Positivo	5 (11,4%)
Negativo	34 (77,3%)
Não realizado	5 (11,4%)
Imunofenótipo para CD56	
Positivo	4 (9,0%)
Negativo	39 (88,6%)
Tipo de transcrito PML-RAR α ^{*&*}	
Bcr1	20 (54,0%)
Bcr2	5 (13,5%)
Bcr3	12 (32,4%)

Variáveis	n: 44 (100%)
Presença de mutação FLT3 ^{***}	
Sim	2 (4,5%)
Não	15 (34,1%)
Não realizado	27 (61,4%)
Sinais e sintomas na apresentação ^{****}	
Distúrbios hemorrágicos	40 (90,9%)
Equimoses e petéquias	40 (90,9%)
Dor	2 (4,5%)
Perda de peso	9 (20,5%)
Tosse	1 (2,3%)
Presença de hemorragia grave	
Sim	8 (18,2%)
Não	36 (81,8%)
Presença de sepse	
Sim	12 (27,3%)
Não	32 (72,7%)
Quimioterapia padrão ^{&}	
Sim	41 (93,2%)
Não	3 (6,8%)
Uso presuntivo de ATRA	
Sim	41 (93,2%)
Não	3 (6,8%)
Presença da síndrome do ATRA	
Sim	10 (22,7%)
Não	34 (77,3%)
Tipo de síndrome do ATRA	
Pseudotumor cerebral	2 (4,5%)
Edema	5 (11,4%)
Hipoxemia	3 (6,8%)
Congestão pulmonar	3 (6,8%)
Infiltração pulmonar	4 (9,1%)
Ganho de peso	5 (11,4%)
Inclusão de quimioterapia Ara-C ^{&&}	
Indução	3 (6,8%)
Re-indução	3 (6,8%)
Consolidação	8 (18,2%)
Morte	
Sim	10 (22,7%)
Não	34 (77,3%)
Tempo de morte após o diagnóstico	
0-24 horas	1 (2,3%)

Variáveis	n: 44 (100%)
2-30 dias	6 (13,7%)
31-60 dias	1 (2,3%)
2,1-24,0 meses	2 (4,5%)
Presença de infiltração no SNC	
Sim	1 (2,3%)
Não	43 (97,7%)
Resposta ao tratamento	
Sim	36 (87,8%)
Não	5 (12,2%)
Uso de ATO em recidiva	
Sim	6 (13,6%)
Não	38 (86,4%)
Recidiva	
Sim	8 (22,2%)
Não	28 (77,8%)
Abandono de tratamento	
Sim	2 (4,5%)
Não	42 (95,5%)
Toxicidade do tratamento	
Insuficiência cardíaca congestiva transitória	3 (6,8%)
Hepatotoxicidade transitória	2 (4,5%)
Aplasia transitória de medula óssea	37 (84,1%)
Cinco anos sem doença	
Sim	9 (20,5%)
Não	35 (79,5%)
TCTH autólogo em recidiva	
Sim	3 (6,8%)
Não	41 (93,2%)

*Hepatites B, C e sífilis; **Estratificação de risco de Sanz; ***Duplicação interna em tandem (DIT) e substituições nucleotídicas em resíduos D835 (D835) do gene tirosina quinase semelhante a *fms* (FLT3); *n: 37; ****Metrorragia, hemorragia em cavidade oral, epistaxe, hematúria e diarreia sanguinolenta; &Quimioterapia padrão: Idarubicina ou daunorubicina ou mitoxantrona combinados ao ATRA; &&Doses intermediárias de Ara-C para pacientes de alto risco e CD34 positivos; &&&n=41; #&& n=36; ATRA – ácido all-trans retinóico; FLT3 - Tirosina cinase 3 semelhante a FMS; CD – *cluster of differentiation*; bcr1 - Sítio de ponto de quebra 1; bcr2 - Sítio de ponto de quebra 2; bcr3 - Sítio de ponto de quebra 3; CIVD – Coagulação Intravascular Disseminada; LDH - Lactato Desidrogenase; SNC – Sistema Nervoso Central; ATO – Trióxido de Arsênio; TCTH – Transplante de Células-tronco Hematopoéticas.

5.5. Desfecho Clínico

5.5.1. Remissão completa

A mediana de seguimento foi de 150 meses (4.575 dias). Dentre os 41 pacientes portadores de LPA que foram tratados com intenção curativa no HU-UFSC, 36 obtiveram remissão completa após ciclo de indução, com um índice geral de remissão completa de 87,8% ($IC_{95\%} = [81,8\% - 93,8\%]$) (Tabela 4).

5.5.2. Mortalidade precoce

Dentre os 44 pacientes com diagnóstico de LPA no HU-UFSC, 7 (15,9%) tiveram morte precoce, desses, três não tiveram tempo hábil de iniciar o tratamento e os outros quatro pacientes foram a óbito durante o tratamento de indução (Tabela 5).

5.5.3. Mortalidade global

Dos 44 pacientes diagnosticados com LPA no HU-UFSC, 10 (22,7%) foram a óbito, dentre estes, 1 por abandono de tratamento, 1 por recidiva hematológica e extramedular e 8 em decorrência de hemorragia grave, especialmente no SNC (Tabela 5). Um paciente, de forma peculiar, desenvolveu trombose venosa profunda e hemorragia cerebral (Tabela 5). A média de tempo do diagnóstico ao óbito foi de 120 dias e a mediana foi de 7 dias (Tabela 5). Os dez pacientes que foram a óbito foram analisados de acordo com os possíveis fatores prognósticos adversos (Tabela 6). Também foram analisados os valores laboratoriais desses pacientes como o valor da hemoglobina, plaquetas, LDH, presença de neutropenia na admissão e o valor das plaquetas no óbito (Tabela 7).

Tabela 5 - Características dos pacientes que foram a óbito de acordo com a causa, tempo até óbito e o desenvolvimento da síndrome ao ATRA.

	Idade; Gênero	Morte Precoce	Tempo até a morte (após admissão)	Síndrome do ATRA	Causa da morte
1	30; F	Sim	14 dias	Não	Hemorragia pulmonar grave
2	28; M	Sim	7 dias	Sim	AVC hemorrágico
3	40; M	Sim	1 dia	Não	Hemorragia gastrointestinal grave
4	58; F	Não	22 meses	Não	Recidiva no baço e medula
5	41; F	Sim	7 dias	Não	Choque hemorrágico/ AVC
6	57; F	Sim	3 dias	Não	Hemorragia cerebral e hematoma subdural
7	37; F	Sim	5 dias	Sim	Infecção / Hemorragia pulmonar e gastrointestinal
8	16; M	Sim	4 dias	Não	AVC hemorrágico
9	35; M	Não	11 meses	Sim	Progressão da doença/Abandono do tratamento
10	23; M	Não	5 meses	Não	Hemorragia cerebral/Trombose venosa profunda

Gênero: F – feminino, M – masculino; ATRA – ácido all-trans-retinóico; AVC – acidente vascular cerebral.

Tabela 6 - Características dos pacientes que foram a óbito de acordo com os possíveis fatores prognósticos.

	Idade; Gênero	Risco	ACA	CD34+	LPA hipogranular	FLT3 +	Distúrbio da coagulação	Score CIVD	PS
1	30; F	I	Sim	Sim	Não	-	Sim	6	3
2	28; M	A	Não	Sim	Não	-	Sim	7	3
3	40; M	A	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	6	2
4	58; F	I	Sim	Sim	Não	-	Sim	6	1
5	41; F	I	-	Não	Não	-	Sim	7	3
6	57; F	I	Não	Não	Não	-	Sim	7	2
7	37; F	A	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	5	2
8	16; M	I	Sim	Sim	Sim	-	Sim	6	1
9	35; M	I	Não	Não	Não	-	Sim	5	3
10	23; M	I	Não	Não	Não	Não	Sim	4	2

Gênero: F – feminino, M – masculino; Risco: I – intermediário, A – alto; ACA – anormalidades cromossômicas adicionais; CD – *cluster of differentiation*; FLT3 – Tiosina-quinase 3 Fms-relacionado; CIVD – coagulação intravascular disseminada; PS – *Performance status*.

Tabela 7 - Características dos pacientes que foram a óbito de acordo com dados laboratoriais.

	Idade; Gênero	Hemoglobina na admissão	Plaquetas na admissão	Plaquetas no óbito	Neutro penia	Infecção	LDH na admissão
1	30; F	8,3	27	10	Não	Sim	757
2	28; M	5,0	20	65	Não	Sim	-
3	40; M	7,2	14	21	Não	Não	350
4	58; F	9,0	22	10	Sim	Sim	378
5	41; F	5,5	5	57	Não	Sim	2734
6	57; F	5,5	15	27	Sim	Não	1048
7	37; F	5,7	15	19	Sim	Sim	717
8	16; M	7,1	21	10	Sim	Não	239
9	35; M	10,9	20	5	Sim	Sim	125
10	23; M	5,8	33	44	Sim	Sim	263

Gênero: F – feminino, M – masculino; LDH – lactato desidrogenase.

5.5.4. Recidiva da doença

Dos 36 pacientes que atingiram remissão completa após a indução, 8 (22,2%) apresentaram recidiva da doença em algum momento, desses 2 (5,5%) por abandono do tratamento. A mediana de tempo para recidiva foi de 457,5 dias (Tabela 8). Essas recidivas foram categorizadas em: recidiva hematológica, recidiva extramedular e recidiva molecular. O índice cumulativo de recidiva (ICR) hematológica foi de 8,3% em 2 anos. Os tratamentos abordados nos pacientes recidivados estão sumarizados na Tabela 9, bem como a estratificação de risco, infecção ao diagnóstico e tratamento.

Tabela 8 - Característica dos pacientes que recidivaram, de acordo com o tipo de recidiva, tempo até recidiva e abandono de tratamento.

	Idade; Gênero	Abandono do tratamento	Características comportamentais*	Tipo de recidiva	Tempo até recidiva**
1	19; M	Sim/2 vezes	Alcool/Drogas	Hematológica	365 dias
2	19; M	Não	Alcool/Drogas	Molecular	549 dias
3	15, F	Não	-	Molecular	610 dias
4	58, F	Não	-	Hematológica/ Extramedular	488 dias
5	34, M	Não	-	Hematológica	305 dias
6	23, M	Não	-	Molecular	1.007 dias
7	35, M	Sim	Alcool/Drogas	Hematológica	275 dias
8	20, M	Não	-	Molecular	427 dias

Gênero: F – feminino, M – masculino.

Tabela 9 - Características dos pacientes que recidivaram, de acordo com o presença de infecção, estratificação de risco, tratamento e transplante de medula óssea.

	Idade; Gênero	Infecção	Risco	Tratamento	TMO autólogo
1	19; M	Sim	Intermediário	7 + 3	
2	19; M	Sim	Intermediário	ATO	Sim
3	15, F	Não	Alto	ATO	Sim
4	58, F	Não	Intermediário	7 + 3	
5	34, M	Sim	Intermediário	7 + 3/ATO	
6	23, M	Não	Alto	ATO	Sim
7	35, M	Sim	Intermediário	-	
8	20, M	Não	Alto	ATO	

Gênero: F – feminino, M – masculino; ATO – trióxido de arsênio; TMO – transplante de medula óssea.

5.5.5. Síndrome do Ácido Retinóico

Dos 41 pacientes que fizeram terapia com ATRA, 10 (22,7%) apresentaram mais de um sintoma relacionados à síndrome do ATRA, sendo os principais: ganho de peso e edema (11,4%), infiltrado pulmonar e dispneia (9,1%), hipoxemia e congestão pulmonar (6,8%) e pseudotumor cerebral (4,5%). Os sintomas ocorreram a partir do terceiro dia do uso do ATRA se estendendo até o 17º dia. Nenhum paciente teve como causa do óbito a Síndrome do ATRA. Todos responderam a terapia com diminuição e/ou suspensão do ATRA associado ao uso de corticoide por até 5 dias.

5.5.6. Sobrevida

De todos os pacientes estudados, a sobrevida global (SG) foi de 77,2% (intervalo de confiança de 95% [IC]: 71% - 83%) em 2 anos (Figura 17). A sobrevida livre de doença (SLD) foi de 67,4% ([IC_{95%}]: 60% - 74%) (Figura 18). Enquanto que a sobrevida livre de eventos (SLE) foi de 67,4% ([IC_{95%}]: 60% - 74%) (Figura 19) conforme pode ser observado pelas curvas de Kaplan Meyer.

Figura 17 - Curva de sobrevida global dos pacientes com leucemia promielocítica aguda

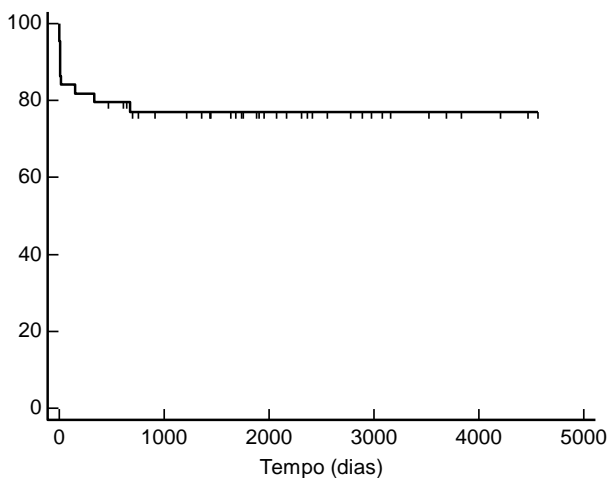


Figura 18 - Curva de sobrevida livre de doença dos pacientes com leucemia promielocítica aguda

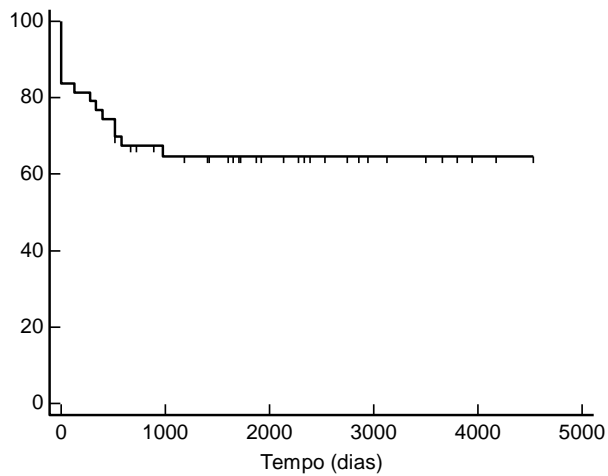
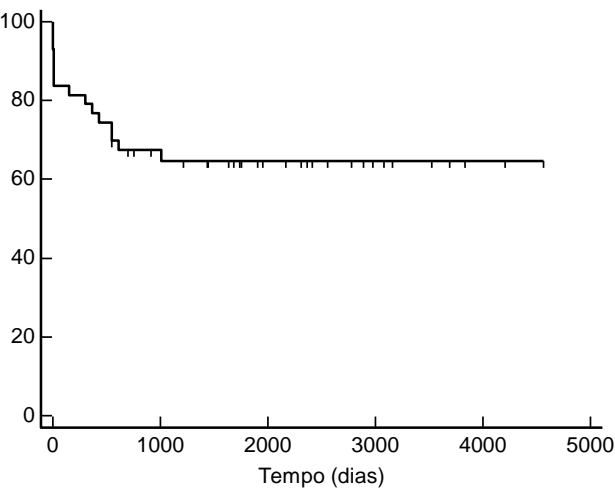


Figura 19 - Curva de sobrevida livre de eventos dos pacientes com leucemia promielocítica aguda



5.6. Análise Univariada de Fatores Prognósticos

5.6.1. Fatores prognósticos de morte

A análise estatística mostrou que entre os 27 possíveis fatores prognósticos indicativos de morte, observou-se significância estatística para 6 fatores prognóstico (Tabela 10).

Vinte pacientes tinham distúrbio da coagulação ao diagnóstico, desses 10 (50,0%) foram a óbito; sendo assim todos os pacientes que faleceram apresentavam distúrbio da coagulação ($p=0,001$).

Além disso, todos os oito pacientes que evoluíram para hemorragia grave foram a óbito ($p=0,001$).

Dos doze pacientes que apresentavam sinais e sintomas de sepse ao diagnóstico, sete (58,3%) morreram ($p=0,001$).

Ressalta-se que os três pacientes que não fizeram terapia com ATRA e quimioterapia, também foram a óbito ($p=0,001$).

Em relação à expressão do CD34 no momento do diagnóstico, do total de 12 pacientes, 6 (50,0%) foram a óbito ($p=0,01$). Em relação ao *performance status*, dos 32 pacientes que apresentavam *performance status* maiores (entre 2 e 3), 8 (25,0%) foram a óbito ($p=0,03$) (Tabela 10).

5.6.2. Fatores prognósticos para recidiva

Como pode ser observado na Tabela 10, a análise estatística de 26 possíveis fatores prognósticos relacionados com a ocorrência de recidiva, foi observado significância estatística em 4 fatores prognósticos.

Observou-se que os fatores relacionados ao estilo de vida foram significativamente estatísticos. Dos pacientes que faziam uso de álcool, 50,0% tiveram recaída, em contrapartida esses pacientes que utilizavam drogas associadas ao uso de álcool também recidivaram ($p=0,004$). Além disso, também apresentaram recidiva, os dois pacientes que abandonaram o tratamento ($p=0,03$).

Dos 12 pacientes que tiveram sinais e sintomas de sepse, quatro (33,3%) apresentaram recidiva.

Tabela 10 - Associação entre fatores prognósticos e morte ou recidiva

Variáveis	Tipo de evento			
	Morte		Recidiva	
	n (%)	p	n (%)	p
Idade (anos)				
Mediana	37	0,64*	21,5	0,41**
Intervalo	16 – 58		15 – 58	
Gênero				
Masculino	5 (20,8%)	1,00	6 (25,0%)	0,25
Feminino	5 (25,0%)		2 (10,0%)	
Comorbidades	4 (13,3%)	0,05	2 (14,3%)	0,70
Uso de álcool	1 (16,7%)	1,00	3 (50,0%)	0,06
Uso de drogas ilícitas	1 (33,3%)	1,00	3 (100,0%)	0,004
Neutropenia*	6 (30,0%)	0,47	4 (20,0%)	1,00
Distúrbio da coagulação	10 (50,0%)	0,001	5 (25,0%)	0,43
LPA hipogranular	3 (50,0%)	0,12	1 (16,7%)	1,00
ACA	3 (42,9%)	0,32	1 (14,3%)	1,00
CD34+	6 (50,0%)	0,01	4 (33,3%)	0,18
Hemorragia severa	8 (100,0%)	0,001	2 (25,0%)	0,62
Sepses	7 (58,3%)	0,001	4 (33,3%)	0,04
Performance status 2-3	8 (25,0%)	0,03*	-	0,68
Score de CIVD ≥ 6	5 (22,7%)	1,00	5 (22,7%)	0,69
Plaquetas $\leq 20 \times 10^3/l$	4 (22,2%)	1,00	5 (27,8%)	0,24
Hemoglobina (g/dl)				
Mediana	7,2	0,10**	9,1	0,20**
Intervalo	5,5 – 10,9		6,8 – 10,9	
Blastos (%)				
Mediana	24	0,87*	48	0,34*
Intervalo	2 – 91		4 – 81	
LDH (U/l)				
Mediana	378	0,19*	299	0,71*
Intervalo	125 – 2734		125 – 741	
Baixo risco	0 (0,0%)	0,17	0 (0,0%)	0,31
Risco intermediário	7 (26,9%)	0,48	5 (19,2%)	1,00
Alto risco	3 (27,3%)	1,00	3 (27,3%)	0,65
Uso presuntivo de ATRA	8 (19,5%)	0,12	8 (19,5%)	0,61
Ausência de quimioterapia	3 (100,0%)	0,001	0 (0,0%)	0,39
Indução com Ara-C	1 (12,5%)	0,65	3 (37,5%)	0,14
Abandono de tratamento	1 (50,0%)	0,43	2 (100,0%)	0,03
Recidiva	2 (25,0%)	1,00	-	-
PML-RARα tipo bcr3	1 (8,3%)	0,96	1 (8,3%)	0,85

ACA – anormalidades cromossômicas adicionais; CD – *cluster of differentiation*; CIVD – coagulação intravascular disseminada; LDH – lactato desidrogenase; ATRA – ácido all-trans-retinóico; Ara-C – citarabina; PML-RAR α – fusão do locus gênico PML e RAR α ; bcr3 – sítio de quebra região 3.

5.7. Análise Multivariada de Fatores Prognósticos

5.7.1. Fatores prognósticos relacionados com a resposta ao tratamento

Baseados nos resultados obtidos na análise univariada, criou-se um modelo para a realização da regressão logística, utilizando 9 possíveis fatores prognósticos que poderiam influenciar na resposta ao tratamento, como: sepse, performance status, valores elevados de lactato desidrogenase (LDH), hemoglobina $<10\text{g/dL}$, *score* de CIVD ISTH ≥ 6 , baixo risco, risco intermediário, alto risco e expressão de CD34 no imunofenótipo (Tabela 11).

Considerando esta análise, o único fator que apresentou influencia na resposta, foi a ausência de sepse, que mostrou uma razão de chance igual a 9,667 ($\text{IC}_{95\%} = [1,87 - 49,8]$; $p=0,007$).

5.7.2. Fatores prognósticos de morte

Após o estudo dos resultados da análise univariada dos fatores prognósticos associados à morte, também foi criado um modelo para regressão multivariada de Cox, que incluiu 13 possíveis fatores prognósticos: alto risco, recidiva, presença de sepse, expressão de CD34, presença de distúrbio da coagulação e de hemorragia grave, hemoglobina $\leq 10\text{ g/dL}$, plaquetas $\leq 20 \times 10^9/\text{L}$, LDH 1,5 vezes maior que o normal, *score* CIVD ≥ 6 , neutropenia $\leq 500/\text{mm}^3$, LPA hipogranular e a presença de ACA (Tabela 12).

A presença de hemorragia grave foi o fator prognóstico que influenciou significativamente ($p=0,0001$) para morte, com um risco relativo de 36,10 ($\text{IC}_{95\%} = [7,29 - 178,72]$) (Tabela 11).

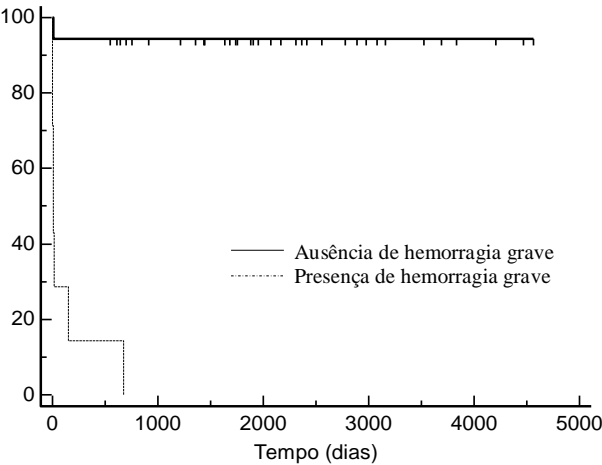
Tabela 11 - Análise multivariada Cox dos fatores de risco para morte na leucemia promielocítica aguda*

Variáveis	Risco Relativo (IC 95%)	P
Presença de hemorragia grave	36,10 (7,29 – 178,72)	<0,0001

*Variáveis não incluídas no modelo: alto risco, CD34+, recidiva, hemoglobina ≤ 10 g/dL, lactato desidrogenase (LDH) $1.5\times$ > que o normal, distúrbio da coagulação, plaquetas $<20\times 10^9/L$, *score* de CIVD ≥ 6 , sepse, leucemia promielocítica aguda hipogranular, ACA, neutropenia $\leq 500/mm^3$. Significância quando $p \leq 0,05$. IC – intervalo de confiança; CIVD – coagulação intravascular disseminada; ACA – anormalidades cromossômicas adicionais; CD – *cluster of differentiation*;

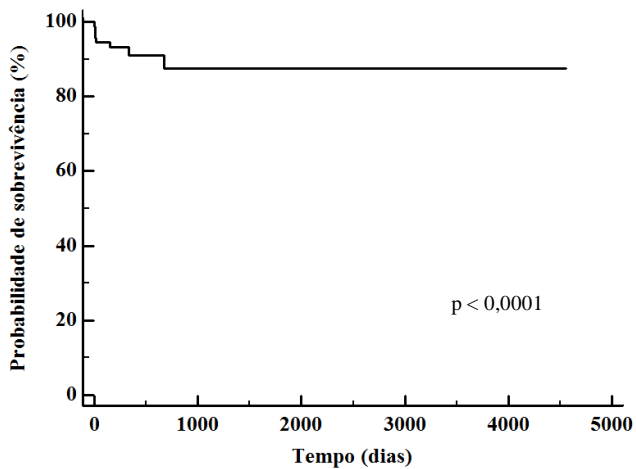
A mediana de sobrevida dos pacientes que não tiveram hemorragia grave foi 4.309 dias (IC 95%: 3968-4650), e dos que tiveram hemorragia grave foi de 149 dias (IC 95%: 0 - 306), como mostra a Figura 20 ($p<0,001$).

Figura 20 - Curva de Kaplan-Meier de sobrevida dos pacientes com leucemia promielocítica aguda que apresentaram hemorragia grave e sem hemorragia grave



Se excluídos os pacientes que apresentaram hemorragia grave, a probabilidade de sobrevida na análise multivariada de Cox seria de 89% (IC_{95%} = [83% – 95%]) em 2 anos, conforme visualizado na Figura 21.

Figura 21 - Curva de Cox representativa da probabilidade de sobrevivência



6. DISCUSSÃO

6.1. Características clínicas, laboratoriais e sócio demográficas dos pacientes

Como visto anteriormente, a LPA é incomum em crianças menores de 10 anos, no entanto, a sua incidência aumenta consideravelmente durante a adolescência, atingindo um platô durante a fase de adulto jovem e se mantém constante até diminuir após os 60 anos. A maioria dos casos são diagnosticados entre os 15 e 60 anos e a proporção entre homens e mulheres é próxima de 1 (MALTA-COREA, 1993; DOUER et al., 1996; VISCKERS et al., 2000; MANDELI et al., 2002; RIBEIRO; REGO, 2006; DESCHLER; LUBBERT, 2006; SANZ *et al.*, 2009). Esses dados vêm ao encontro com os resultados obtidos neste estudo, no qual foi observado uma mediana de idade de 34,5 anos, variando de 15 a 58 anos e um leve predomínio no gênero masculino (54,5%) (Figura 13).

A alta incidência de casos de LPA (25%) dentre os outros subtipos de LMA em nossa instituição é semelhante à da literatura internacional, quando essa afirma que há a maior quantidade de casos em grupos étnicos latinos e hispânicos, onde nos enquadrados (Figura 13). Porém a frequência de LPA entre as LMAs é muito variável e não é realmente conhecida, uma vez que a maioria dos estudos baseiam-se em registros hospitalares, por haver uma dificuldade de diagnóstico relacionada à mortalidade precoce e alguns critérios de seleção de amostra nos estudos (DOUER et al., 1996; REGO, 2009).

O HU-UFSC é um centro de referência para todo o Estado de Santa Catarina no tratamento das leucemias agudas e isso justifica a distribuição dos casos entre a capital (27,3%) e o interior (72,7%).

Do total de casos de LPA estudados, a maioria dos pacientes tinha baixo grau de instrução, inclusive, 9% se declaravam analfabetos e a principal profissão era a prestação de serviços terciários. Ressaltamos que os que exerciam a atividade agrícola (20,5%) tinham contato direto com o uso de agrotóxicos, fator relevante que pode estar implicado, junto com outros fatores ambientais, na gênese do câncer, inclusive nas leucemias. Alguns estudos apontam que há associação entre exposição a solventes orgânicos como benzeno e produtos de petróleo e o desenvolvimento de LMA (CONKRITE, 1987; CONKRITE, 1989; IRONS; STILLMAN, 1996).

Em relação à estratificação de grupos de risco, Sanz e colaboradores relataram em 2010 uma incidência em torno de 20% dos pacientes com LPA de alto risco. A contagem de leucócitos acima de $10 \times 10^9/L$ está associada com pior prognóstico devido a uma alta

mortalidade durante a fase de indução (BURNETT et al., 1999; SANZ et al., 2004). Nossos resultados demonstraram que a população estudada esteve incluída nesses grupos de risco importantes, com fatores de risco intermediário (58,1%) e alto (25,6%) (Figura 14).

Uma das características clínicas principais da LPA é a propensão de sangramento aumentada, desproporcional à plaquetopenia e os eventos hemorrágicos, os quais estão presentes em cerca de 60% a 80% dos pacientes ao diagnóstico (CHANG; CHEN; 2008). Dos casos incluídos neste estudo, foi observado que 59,1% apresentavam coagulopatia (Tabela 4). Neste estudo, o distúrbio da coagulação, constatado pelo prolongamento de TAP e TTPa, foi observado em 45,5% (Tabela 4). O prolongamento do TAP é considerado um preditor de hemorragia clínica evidente, podendo ser fatal (CHANG et al., 2012).

De acordo com a literatura, a associação da translocação recíproca t(15;17) com outras anormalidades cromossômicas adicionais (ACA) está bem estabelecida e a sua incidência encontra-se em torno de 20-40%. Porém, essa associação não parece ser um fator independente que poderia influenciar no desfecho clínico dos pacientes com LPA (CERVERA et al., 2010). Neste estudo, encontramos uma incidência inferior, de 15,9% (Tabela 4). A ACA mais frequente em LPA é a trissomia do 8 (8q), que ocorre em até 30% (XU et al., 2001). Nos casos avaliados foi observada uma proporção mais baixa (6,8%). Possivelmente, justificada por problemas relacionados à técnica de cariótipo convencional, à demora na realização do exame e principalmente, ao baixo índice mitótico observado em um grande número de nossas amostras. Nossos resultados mostram que a ACA mais encontrada foi a -7 / 7q- apresentada em 11,4% dos pacientes. O impacto dessas alterações citogenéticas adicionais sobre o prognóstico da doença não está definido, apresentando divergência em vários trabalhos. (HIORNS et al., 1997; SCHOCH et al., 1996; DE BOTTON et al., 2000; AVVISATI et al., 2001; HERNÁNDEZ et al., 2001; XU et al., 2001; SPELL et al., 2002; LUATTI et al., 2008).

A LPA hipogranular foi reconhecida como um subtipo de LPA, com características clínicas e biológicas especiais, porém não tem sido observado que a remissão completa e a sobrevida global são inferiores se comparada com a LPA hipergranular (TALLMAN et al., 2010). A frequente mortalidade precoce entre os pacientes com LPA hipogranular tem sido atribuída às anormalidades hemostáticas severas e ao sangramento fatal, particularmente à hemorragia cerebral, os pacientes normalmente apresentam leucocitose, porém acredita-se que o desfecho esteja mais relacionado à hiperleucocitose do que ao subtipo

morfológico (SANZ et al., 2009). Tallman e colaboradores (2010) estudaram 155 pacientes com LPA hipogranular, e verificaram que a taxa de sobrevida global em 5 anos era de 70%. Quando foi investigado separadamente a LPA hipogranular e hiperleucocitose ($10 \times 10^9/L$) a sobrevida global caiu para 62%. Dessa forma se conclui que a LPA hipogranular, como um fator independente, não é um fator negativo para um desfecho desfavorável se comparada com a LPA clássica. Nossos dados corroboram com os desse estudo, pois também não encontramos diferenças estatísticas significativas de resposta entre os subtipos de LPA (Figura 15).

Geralmente a expressão de CD34 na LPA está associada a hiperleucocitose, LPA hipogranular, co-expressão com CD2, presença do transcrito bcr3, conhecidos como fatores associados a pior prognóstico (FOLEY et al., 2001). Segundo a literatura, a expressão de CD34 encontra-se entre 20 a 30% dos pacientes com LPA (DE LA PORTA et al., 2006), valor semelhante (27,3%) foi encontrado neste estudo (Tabela 4). Lee e colaboradores, em 2003, descreveram piores índices de SG (55,6%) e SLD (43,8%) em 10 pacientes que eram CD34+, o que não foi encontrado neste estudo (Figura 15). Lee estudou um número pequeno de pacientes (n=10) que expressaram CD 34+, e, assim como os outros estudos, não existem estudos clínicos com grande número de pacientes sobre a importância da expressão do CD34 na LPA, e, se ele pode ser considerado como um fator independente de risco (KANDA et al., 2000; FOLEY et al., 2001; DE LA PORTA et al., 2006; DALAL et al., 2012).

A presença da mutação do gene do FLT3 ao diagnóstico foi outro fator avaliado neste estudo. Um estudo recente realizado por Breccia e colaboradores (2013) mostrou que existe uma associação entre a mutação do FLT3-DIT e pior desfecho nos pacientes tratados com protocolo AIDA. Esse estudo foi realizado de abril de 1993 a outubro de 2010 com 147 pacientes com diagnóstico novo de LPA, foi observado que embora não houve diferença na resposta à terapia de indução, nos pacientes que eram FLT3-DIT positivos, foi observado uma piora significativa na SG, SLD e SLD. Estudos anteriores não mostravam claramente a influência da mutação no FLT3 na resposta dos pacientes com LPA (NOGUERA et al, 2002). Usualmente a mutação no FLT3-DIT tem sido relatada como pior prognóstico na LPA em associação com hiperleucocitose e LPA hipogranular (GALLAGHER et al, 2012). Neste estudo foi realizado a pesquisa das mutações no gene FLT3-DIT e D835 em apenas 17 pacientes e 2 (4.5%) desses foram positivos para FLT3-DIT, mas tivemos dificuldade de realizar análise estatística, pois o

número de pacientes foi baixo (Figura 15). Mas vale ressaltar, que um dos casos era de uma paciente de 37 anos que apresentava as quatro combinações de prognósticos adversos: LPA hipogranular, mutação FLT3-DIT, alto risco e a presença do transcrito bcr3, indo a óbito precocemente, características compatíveis com o relato na literatura. Mais estudos com um número maior de pacientes devem ser realizados associando as mutações no gene do FLT3 e o tratamento com o ATO como primeira linha, observando as respostas (NOGUERA *et al.*, 2002; BEITINJANEH *et al.*, 2010; SCHNITTGRE *et al.*, 2011).

Assim como em estudos anteriores, que demonstraram que a isoforma de PML-RAR α bcr3 está presente em cerca 34 – 45% dos pacientes latinos e hispânicos com LPA (DOUER *et al.*, 1996; WANG; CHENG, 2006; SANZ *et al.*, 2009), foi verificado nos casos de LPA estudados, a presença da isoforma de PML-RAR α bcr3 em 32,4% dos casos (Tabela 4). Essa informação é importante, pois a isoforma bcr3 está frequentemente associada com outros possíveis fatores de mau prognóstico (GALLAGHER *et al.*, 2012).

6.2. Desfecho Clínico

6.2.1. Remissão completa

Resultados obtidos por Rego e colaboradores (2013), em um estudo nacional, apresentaram uma taxa de remissão completa de 85%, a qual é similar a taxa encontrada em nosso estudo (87,8%) (Tabela 4). Os grandes grupos internacionais de estudo em LPA, como o grupo PETHEMA, trazem resultados de remissão completa de 91,1% (estudo LPA99) e 92,5% (estudo LPA2005). Porém, dos 481 pacientes incluídos no estudo LPA99, 34 (7,1%) foram considerados não elegíveis para o estudo por causa da *performance status* alto ou morte antes do início da terapia. Esses pacientes foram incluídos em nossa análise, pois um dos objetivos era ter uma visão global da LPA e não selecionar pacientes (SANZ *et al.*, 2000; SANZ *et al.*, 2004; SANZ *et al.*, 2008; SANZ *et al.*, 2010). Uma taxa de cura de 80 a 90% após a terapia de indução é esperada (TALMANN *et al.*, 2010). Apesar desses dados demonstrarem que a LPA pode ser uma doença curável, desde que possa ser evitada a morte precoce, os novos estudos com ATRA associado com ATO, mostram taxas de remissão completa que podem chegar à 97% em pacientes de risco intermediário e baixo (SANZ; FENAUX; LO COCO, 2005; LO-COCO *et al.*, 2013).

6.2.2. *Mortalidade precoce*

Em um estudo observacional realizado entre 1992 a 2007, por Park e colaboradores, com dados coletados no programa *Surveillance Epidemiology, and End Results (SEER)*, a análise de 1.400 pacientes com LPA, demonstrou que a taxa de mortalidade precoce foi de 17,3%, e que se manteve alta, e que era independente da introdução da terapia com ATRA. Ainda neste sentido, um estudo brasileiro apresentou uma mortalidade precoce de 15% dentre os 183 pacientes com LPA, sendo que a hemorragia foi a principal causa de morte (REGO et al., 2012; REGO et al., 2013). Ressalta-se que 5 a 10% vão a óbito antes do início de qualquer terapia (SANZ; FENAUX; LO COCO, 2005). Esse resultado é similar ao observado neste estudo, que apresentou uma taxa de 6,8% de morte antes de qualquer tratamento e 15,9% de óbitos em 30 dias a partir do diagnóstico (Tabela 4).

6.2.3. *Mortalidade Global*

Durante o período de análise dos casos de LPA deste estudo, foi registrado uma taxa de mortalidade global de 22,7%, a qual pode ser considerada levemente elevada quando compara com outro estudo brasileiro que traz uma taxa de mortalidade de 20,5% dos pacientes com LPA (REGO et al., 2012; REGO et al., 2013). Porém, ressaltamos que 10% dos pacientes que foram a óbito em nosso estudo, foram devido a abandono de tratamento (Tabela 4). Nesse contexto, Lehmann e colaboradores estudaram 105 pacientes com LPA registrados no *Swedish Adult Acute Leukemia Registry*, entre 1997 e 2006 e relataram uma taxa de morte entre 26 e 29%. A mortalidade global em pacientes brasileiros portadores de LPA, encontra-se elevada quando comparada com estudos europeus e japoneses, que trazem taxas abaixo de 10% de mortalidade (AVVISATI et al., 2003; ASOU et al., 2007; SANZ et al., 2010).

Ainda existem controvérsias em relação à taxa de mortalidade encontrada nos grupos cooperativos internacionais e os demais estudos em LPA que precisam ser melhor avaliadas e interpretadas, por excluirmos pacientes que tiveram mortalidade precoce. Embora exista essa diferença, acredita-se que nesses grandes grupos internacionais de estudo em LPA pode ocorrer um viés de seleção de amostra. No entanto, vê-se a necessidade de melhorias nas terapias de suporte nos centros de tratamento de pacientes portadores de LPA do Brasil.

Corroborando os resultados de estudos, reafirmamos que a mortalidade precoce ainda compreende a maior parte da mortalidade global, e observamos que 78,9% dos óbitos neste estudo estavam inseridos em mortalidade precoce.

Em relação às causas de óbito, foi observado que 80% ocorreram devido a hemorragias, com predominância no SNC, o que também é observado em outros trabalhos (WANG et al., 2008; SANZ et al., 2010; REGO et al., 2013). Porém, não foi relatada morte relacionadas à síndrome de diferenciação do ATRA (Tabela 5).

Paradoxalmente, um dos pacientes incluídos no estudo, do gênero masculino, de 23 anos de idade foi a óbito com trombose venosa profunda e hemorragia cerebral após o início da terapia com ATRA (Tabela 5). As complicações trombóticas na LPA podem ocorrer acima de 10% dos pacientes com LPA e muitas vezes são sub diagnosticadas (ESCUДИER et al., 1996; DE STEFANO et al., 2005; CHOUDHRY; DELOUGHERY, 2012).

6.2.4. Recidiva da doença

A recidiva foi analisada de forma generalizada, levando em consideração tanto pacientes que demonstraram recidiva hematológica, quanto molecular e extramedular ou ambas.

Em estudos internacionais, o índice cumulativo de recidiva (ICR) varia entre 7 a 20%, sendo maior nos pacientes de alto risco; porém não se relata qual o tipo de recidiva que foi utilizada para análise. Assim encontramos um ICR hematológica de 8,3% em 2 anos, dado compatível com a literatura (SANZ et al., 2010; REGO et al., 2013). Vale ressaltar que, dos 22,2% casos de recidiva (hematológica, extramedular e molecular) em nosso estudo, 37,5% dos pacientes apresentavam perfis comportamentais adversos, sendo os pacientes usuários de álcool e drogas (Tabela 4). Esses perfis comportamentais estão relacionados com a não adesão ao tratamento pelo paciente, o que culmina no aumento da probabilidade de recidiva (Tabela 8).

O ATO já está bem documentado como terapia padrão para uso em casos de recidiva de LPA, é uma medicação bem tolerada que induz uma taxa de 83% de remissão molecular em pacientes que já haviam feito terapia de indução com outros fármacos antileucêmicas (SOIGNET et al., 2001; LENGFELDER et al., 2005). Nesse contexto, todos os pacientes deste estudo que utilizaram a terapia com ATO na recidiva, obtiveram sucesso terapêutico e permanecem em remissão (Tabela 9).

Em nosso estudo, 3 pacientes recidivados receberam TCTH autólogo após a terapia de indução com ATO com o objetivo de prolongar o tempo de remissão (Tabela 9). A maioria dos pacientes que apresentam recidiva são candidatos a atingir uma segunda remissão completa (RC2), usando regimes de indução a base de ATRA ou ATO. Após atingir a RC2, a maioria dos pacientes necessita receber um tratamento pós-remissão para reduzir a doença residual mínima (DRM) (SOIGNET et al., 2001; THOMAS et al., 2006). Uma variedade de estratégias pós-remissão tem sido empregada, incluindo consolidação com quimioterapia, TCTH autólogo ou alogênico, continuação do tratamento com ATO ou a combinação dessas terapias, entretanto, ainda há controvérsias quanto à terapia pós-remissão ideal (FUJITA et al., 2013). Dos transplantes, tem se dado preferência ao TCTH autólogo, devido à alta mortalidade relacionada ao procedimento, reservando o TCTH alogênico para pacientes jovens com doadores totalmente compatíveis ou com doença refrataria após RC2 (DE BOTTOM et al., 2005; FUJITA et al., 2013).

6.2.5. Sobrevida

Vários estudos em diferentes países têm avaliado a sobrevida global, sobrevida livre de doença e a sobrevida livre de eventos na LPA (TALLMAN et al., 2002; SANZ et al., 2004; RIBEIRO et al., 2006; ASOU et al., 2007; ADÈS et al., 2010; REGO et al., 2013). De forma geral, essas taxas variaram de 60 a 90% (SANZ et al., 2009). Ressaltam-se aqui alguns trabalhos importantes, como, por exemplo, o realizado por Tallman e colaboradores em 2002, que estudaram 350 pacientes norte-americanos com diagnóstico de LPA. Os autores demonstraram uma SG de 69% e SLD de 69% dos pacientes em cinco anos. Sanz e colaboradores em 2004 demonstraram dados bem melhores, com uma sobrevida global em 426 pacientes portadores de LPA de 88% em 5,7 anos e 81% SLD em 3 anos, porém a grande parte deles eram considerados como de baixo risco. Em outro estudo, Asou e colaboradores (2007), estudaram 283 pacientes portadores de LPA no Japão obtendo 83,9% de SG em 6 anos e 68,5% de SLD em 5 anos, dados inferiores que aqueles encontrados por Sanz e colaboradores (2004). Já no Brasil, em 2006, Ribeiro e colaboradores publicaram um estudo efetuado com 148 pacientes e observaram valores ainda mais inferiores que os estudos citados anteriormente, no qual a SG foi de 58,2% em 3 anos. Posteriormente, em 2013, após a criação do IC-APL, Rego e colaboradores publicaram um estudo com 80% de SG, 91% de

SLD e 77% de SLE em 2 anos, porém esses dados foram calculados com os pacientes que iniciaram a terapia, excluindo-se os que sofreram morte precoce. Em 2010, o grupo Europeu coordenado por Adés e colaboradores, encontraram uma SG não randomizada de 85% e SLE de 76,3% em 10 anos. Quando os pacientes foram randomizados por hiperleucocitose a SG caiu para 63% e SLE para 48,1% em 10 anos. Nossos resultados não diferem daqueles observados por outros grupos, pois foi observado uma SG foi de 77,2%, com SLD de 67,4% e SLE 67,4%. Esses dados são excelentes para o Brasil e comparáveis com a literatura mundial. Vale ressaltar que diferente de outros estudos, no presente estudo não houve a exclusão de pacientes que morreram antes do início de qualquer terapia ou abandono de tratamento e que eram, na maioria, de risco intermediário e alto (Figuras 17, 18 e 19).

Por outro lado, novos estudos com 156 pacientes italianos em uso da associação com ATO e ATRA, como tratamento de primeira linha, mostraram taxas de SG de 99% e SLE 97% em 2 anos em pacientes de risco baixo e intermediário (LO-COCO et al., 2013). Embora o ATO ainda tenha um custo elevado para o Brasil, acreditamos que, assim que seja possível, haverá a sua incorporação como tratamento de primeira linha da LPA no HU-UFSC.

6.2.6. *Score de CIVD*

O *score* de CIVD foi criado em 2001 pela ISTH a fim de reconhecer precocemente os possíveis pacientes com CIVD, e dessa forma, instituir a terapia mais adequada e combater fatores causais (TAYLOR JR. et al.; 2001). Inicialmente foi utilizado para pacientes em estado crítico, pacientes com infecção severa e/ou politraumatizados. Nesses casos, foi mostrado que esse *score* tem uma sensibilidade de 91% e especificidade de 97% (BAKHITIARI et al., 2004). Devido a facilidade de uso, a sua aplicação foi ampliada para uso em oncologia e em situações onde a CIVD é particular, como na LPA (CHANG et al., 2012). Como a LPA caracteristicamente cursa com plaquetopenia por conta da proliferação descontrolada de promielócitos leucêmicos, não se sabe qual o valor de corte ideal para esses pacientes. Mitrovic e colaboradores (2013), publicaram um artigo com o valor do *score* igual ou superior a 6 para pacientes com LPA como preditor independente de mortalidade precoce por hemorragia. Em contrapartida, alguns comentários de Chang (2013) sobre o artigo demonstraram que não encontrou o *score* de CIVD como sendo um preditor independente de hemorragia grave. No presente trabalho, os resultados mostram que o

score 6 para CIVD em LPA é mais plausível, pois realmente reflete os pacientes mais críticos, ele tem papel na análise multivariada, porém não é um fator independente de risco (Figura 16). Valores inferiores a 6 são importantes para resposta ao tratamento em portadores de LPA. Deve-se questionar o fato desse critério ainda utilizar os valores de TAP em segundos e não com a razão normalizada internacional (RNI) amplamente aplicada, e, além disso, de não utilizar novos marcadores de CIVD, como a antitrombina III, proteína C.

6.3. Análise Univariada de Fatores Prognósticos

6.3.1. Fatores prognósticos de morte

Na análise univariada dos fatores prognósticos que influenciaram significativamente para a morte, destacamos: a presença de distúrbio da coagulação, sepse, hemorragia grave, expressão de CD34, não conseguir iniciar quimioterapia em tempo hábil e *performance status* entre 2 e 3 (os valores maiores que obtivemos). Todos os pacientes que tiveram hemorragia grave morreram, conferindo um importante dado a analisar de forma multivariada (Tabela 10).

6.3.2. Fatores prognósticos de recidiva

Neste trabalho, na análise univariada dos fatores prognósticos como o uso prévio de drogas, abandono de tratamento, presença de sepse foram importantes para a recidiva da doença. O uso prévio de álcool mostrou uma tendência à recidiva. A recidiva da doença parece estar relacionada ao comportamento social dos pacientes, contribuindo para o abandono de tratamento e possibilidade de retorno da doença (Tabela 10).

6.4. Análise Multivariada de Fatores Prognósticos

6.4.1. Fatores prognósticos de resposta ao tratamento

Na análise multivariada de fatores prognósticos, selecionados previamente pela análise univariada, foi observado pela regressão logística, que a ausência de sepse ao diagnóstico apresentou um risco relativo de 9,667 (IC_{95%} = [1,87 – 49,8]; p=0,007), de boa resposta ao tratamento.

Pouco se estuda sobre fatores que influenciam a resposta terapêutica, pois o que mais preocupa é a ocorrência de morte e a presença de fatores predisponentes. Porém, como a LPA tem evoluído com altas taxas de sobrevida, que podem chegar a mais de 90%, e baixa mortalidade, modelos de resposta podem ser incorporados para que também se identifiquem pacientes de baixo risco.

6.4.2. Fatores prognósticos de morte

Na análise multivariada de fatores prognósticos selecionados previamente pela análise univariada para a ocorrência de morte, foi encontrado que a hemorragia grave foi o fator que mais influenciou no desfecho negativo dos pacientes com LPA (Figura 20; Tabela 12). O sangramento na LPA é uma complicação evidente desde a primeira descrição da doença (HILLESTAD, 1957). Dados em relação à identificação de fatores de risco para hemorragias severas e possivelmente fatais são limitados, principalmente por excluïrem, na maioria dos estudos, os pacientes que morreram antes de iniciarem a terapia. Algumas análises univariadas realizadas por De La Serna e colaboradores (2008) em 732 pacientes portadores de LPA mostraram que idade superior a 70 anos, hiperleucocitose ($>10 \times 10^9/L$) e a contagem de blastos $>30\%$ no sangue periférico estavam relacionados a maior mortalidade. Já na análise multivariada os autores relataram significância para a ocorrência de morte na presença de alto valor da creatinina, coagulopatia e quando a contagem de blastos era $>30\%$ no sangue periférico. Di Bona e colaboradores em 2000 publicaram um estudo com 499 pacientes comparando o uso da antraciclina com ou sem ATRA. O grupo que usou ATRA mais quimioterapia teve uma redução no número de mortes por sangramento e redução na incidência de infecções do que aqueles que não fizeram uso. Di Bona e colaboradores não relataram a incidência da hemorragia grave, apenas hemorragia precoce que variou de 3 a 5%. Se fosse possível prever os pacientes que tem maior chance de ter hemorragia grave e, assim, combatê-la precocemente, a taxa de SG encontrada neste estudo poderia ficar em torno de 90% (Figura 21).

Nesse contexto, Sanz e colaboradores em 2008 e Tallman e colaboradores em 2009, propõem, para tentar evitar a hemorragia grave, uma rotina de condutas que compreende: monitoramento dos exames da coagulação (TAP/TTPa) a cada seis horas no início do quadro clínico de sangramento, transfusão de concentrado de plaquetas (manter entre 30 a $50 \times 10^9/L$ e se sangramento SNC manter em torno de $100 \times 10^9/L$ de

plaquetas), transfusão de crioprecipitado para manter fibrinogênio acima de 150mg/dL e iniciação de ATRA precocemente assim que tiver uma suspeita clínica. Também se propõe a aplicação do anticorpo anti-PML para o rápido diagnóstico dos casos suspeitos (FALINI et al., 1997).

6.5. Consórcio Internacional em Leucemia Promielocítica Aguda

Desde 2012, o HU-UFSC foi incorporado ao programa IC-APL, após treinamento e análise do corpo técnico, contribuindo com o envio de amostras de sangue periférico e medula óssea de pacientes com suspeita de LPA, cadastrando os pacientes num site unificado e participando das reuniões online e presenciais realizadas pelo grupo, a fim de melhorar os estudos e resultados dos pacientes com LPA na América Latina.

7. CONCLUSÃO

Com base nos 13 anos de análise do estudo da LPA no HU-UFSC podemos concluir que:

1. Em relação ao perfil dos pacientes:

- a. O perfil dos pacientes mostrou ser uma população jovem, com leve predomínio no sexo masculino e com influência de alguns fatores socioeconômicos e comportamentais adversos que possivelmente influenciaram na recidiva;
- b. O perfil comportamental dos pacientes, como o uso de álcool e de drogas, influenciou na falha de se obter o sucesso terapêutico, fato confirmado pelo maior abandono do tratamento e, conseqüentemente, recidiva ou morte;

2. Em relação à incidência:

- a. Foi encontrada uma incidência ligeiramente alta de LPA entre as LMAs quando comparadas com a incidência no Brasil: 25% versus 20%, porém dentro das estatísticas para os pacientes latino-americanos que é em torno de 30%;

3. Em relação às manifestações clínicas e laboratoriais:

- a. A coagulopatia esteve presente em mais da metade dos pacientes na apresentação da doença e foi fator determinante para contribuir para o aumento da mortalidade, assim como a sua ausência contribuiu para uma boa resposta ao tratamento;
- b. A hemorragia grave, especialmente no SNC, foi o fator de maior agravo para a morte e requer rápido reconhecimento e prevenção;

4. Em relação ao desfecho clínico:

- a. A taxa de remissão completa (87,9%) encontrada neste estudo foi igual ao estudo do IC-APL e de estudos americanos, o que demonstrou ser uma excelente taxa para o Brasil;
- b. Neste estudo foi encontrado uma mortalidade de 22,7% que foi confirmada em estudos americanos, suecos e brasileiros, mas que no entanto, mostraram discrepância com os estudos cooperativos espanhóis e italianos;
- c. As taxas de SG, SLD e de SLE foram de 77,2%, 67,4% e 67,4%, respectivamente, compreendendo todos os pacientes, inclusive os abandonos de tratamento e aquele

que obtiveram mortalidade precoce, mostraram ser muito boas;

- d. A mortalidade precoce representa a principal causa de morte nos pacientes portadores de LPA (78,9%);
- e. Pacientes que apresentaram hemorragia grave viveram menos dos que os que não apresentaram;

5. Em relação às recidivas:

- a. As recidivas foram avaliadas de forma global e incluídos todos os tipos de recidiva, tanto hematológica, extramedular quanto molecular, com um índice cumulativo de recidiva hematológica em 2 anos de 8,3%, dados semelhantes à literatura;
- b. As recidivas tratadas com ATO tiveram excelente resposta terapêutica;

6. Em relação ao suporte:

- a. As medidas de suporte a fim de evitarem o sangramento severo e fatal necessitam ser intensificadas para evitarem a morte dos pacientes com LPA, como por exemplo, de aumentar o nível plaquetário entre 30 a $50 \times 10^9/L$ transfusão de concentrado de plaquetas, em pacientes de maior risco;

7. Em relação ao IC-APL:

- a. A inclusão do serviço de hematologia do HU-UFSC no IC-APL foi muito importante para agregarmos experiência e conhecimentos com outros centros brasileiros e mundiais de conhecido renome no estudo da LPA e melhorar ainda mais no diagnóstico e no manejo, aumentando as nossas taxas de resposta positiva;

8. Em relação ao diagnóstico:

- a. A unificação do diagnóstico laboratorial, junto com a suspeita clínica inicial, aliando a avaliação laboratorial rápida com técnicas de biologia molecular, foram fundamentais para o diagnóstico rápido e acurado e, em consequência, boas taxas de resposta terapêutica;

9. Em relação aos fatores prognósticos:

- a. Os pacientes com valores normais de hemoglobina e LDH, com *scores* de CIVD abaixo de 6 e com ausência de hemorragia grave, obtiveram melhor resposta terapêutica;
 - b. A hemorragia grave foi o maior fator prognóstico adverso para morte;
 - c. Os *scores* de CIVD não estão padronizados e não se relacionam com gravidade, porém foi um fator associativo para resposta ao tratamento se *scores* abaixo de 6;
 - d. A investigação das mutações do gene do FLT3 deve ser incorporada na rotina dos pacientes com suspeita de LPA, pois pode interferir no desfecho clínico;
 - e. Reconhecer pacientes de alto risco para morte é de fundamental importância para o desfecho positivo na LPA;
10. Conforme o supracitado, concluímos que o tratamento dos pacientes portadores de LPA no HU-UFSC é adequado e comparável ao dos grandes centros. Além disso, devemos considerar que representamos uma instituição subsidiada exclusivamente com recursos públicos, que muitas vezes são escassos e, em consequência disso, apresentamos várias deficiências globais que podem ser melhoradas, pois estudos como estes mostram que é válido continuar investindo no aperfeiçoamento de novas formas de diagnóstico e de tratamento.

REFERÊNCIAS

ADÈS, L.; CHEVRET, S.; RAFFOUX, E., DE BOTTON, S.; GUERCI, A.; PIGNEUX, A.; DOMBRET, H.; MEYER-MONARD, S.; THOMAS, X.; DEGOS, L.; STOPPA, A.M.; LAMY, T.; RIGAL-HUGUET, F.; VEKHOFF, A.; MALOISEL, F.; DECONINCK, E.; FERRANT, A.; FEGUEUX, N.; CHOMIENNE, C.; FENAUX, P. Is cytarabine useful in the treatment of acute promyelocytic leukemia? Results of a randomized trial from the European Acute Promyelocytic Leukemia Group. **J Clin Oncol**, 24:5703–5710, 2006.

ADÈS, L., CHEVRET, S.; RAFFOUX, E., DE BOTTON, S.; GUERCI, A.; PIGNEUX, A.; DOMBRET, H.; MEYER-MONARD, S.; THOMAS, X.; DEGOS, L.; STOPPA, A.M.; LAMY, T.; RIGAL-HUGUET, F.; VEKHOFF, A.; MALOISEL, F.; DECONINCK, E.; FERRANT, A.; FEGUEUX, N.; CHOMIENNE, C.; FENAUX, P. Very long-term outcome of acute promyelocytic leukemia after treatment with all-trans retinoic acid and chemotherapy: the European APL Group experience. **Blood**, 1690–1696, 2010.

ADÈS, L., SANZ, M.A., CHEVRET, S., MONTESINOS, P.; CHEVALLIER, P.; RAFFOUX, E.; VELLENGA, E.; GUERCI, A.; PIGNEUX, A.; HUGUET, F.; RAYON, C.; STOPPA, A.M.; DE LA SERNA, J.; CAHN, J.Y.; MEYER-MONARD, S.; PABST, T.; THOMAS, X.; DE BOTTON, S.; PARODY, R.; BERGUA, J.; LAMY, T.; VEKHOFF, A.; NEGRI, S.; IFRAH, N.; DOMBRET, H.; FERRANT, A.; BRON, D.; DEGOS, L.; FENAUX, P. Treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL): a comparison of French-Belgian-Swiss and PETHEMA results. **Blood**, 111(3): 1078–1084, 2008.

ANDOH, K.; KUBOTA, T.; TAKADA, M.; TANAKA, H.; KOBAYASHI, N.; MAEKAWA, T. Tissue factor activity in leukemia cells. Special reference to disseminated intravascular coagulation. **Cancer**, 59:748-54, 1987.

ARBUTHNOT, C.; WILDE, J.T. Haemostatic problems in acute promyelocytic leukaemia. **Blood**, 20:289-97, 2006.

ASOU, N.; KISHIMOTO, Y.; KIYOI, H., OKADA, M.; KAWAI, Y.; TSUZUKI, M.; HORIKAWA, K.; MATSUDA, M.; SHINAGAWA, K.; KOBAYASHI, T.; OHTAKE, S.; NISHIMURA, M.; TAKAHASHI,

M.; YAGASAKI, F.; TAKESHITA, A.; KIMURA, Y.; IWANAGA, M.; NAOE, T.; OHNO, R. A randomized study with or without intensified maintenance chemotherapy in patients with acute promyelocytic leukemia who have become negative for PML-RAR_transcript after consolidation therapy: The Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG) APL97 study. **Blood**, 110:59-66, 2007.

ASOU, N. All-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. **Inter Med**, 46: 91-3, 2007.

AVVISATI, G., LO-COCO, F., MANDELLI, F. Acute promyelocytic leukemia: clinical and morphologic features and prognostic factors. **Semin Hematol**, 38:4-12, 2001.

AVVISATI G, TALLMAN MS. All-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukaemia. **Best Pract Res Clin Haematol**, 16:419-432, 2003.

AZEVEDO, M. C. Avaliação retrospectiva dos pacientes portadores de leucemia mielóide aguda tratados no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) entre 1978 e 2007. Tese de doutorado USP, São Paulo, 2009.

BAIN, B.J. Diagnóstico em Leucemias. 2. Rio de Janeiro: Revinter. 2003.

BAKHTIARI, K.; MEIJERS, J.C.M.; DE JONGE, E.; LEVI, M. Prospective validation of the International Society of Thrombosis and Haemostasis scoring system for disseminated intravascular coagulation. **Crit Care Med**, 32:2416-2421, 2004.

BASSAN, R.; BATTISTA, R.; VIERO, P.; D'EMILIO, A.; BUELLI, M.; MONTALDI, A.; RAMBALDI, A.; TREMUL, L.; DINI, E.; BARBUI, T. Short-term treatment for adult hypergranular and microgranular acute promyelocytic leukemia. **Leukemia**, 9:238-243, 1995.

BEITINJANEH, A.; JANG. S; ROUKOZ. H.; MAJHAIL, N.S. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations in acute promyelocytic leukemia: A systematic review. **Leuk Res**, 34:831-836, 2010.

BÉNÉ, M.C.; BERNIER, M.; CASTOLDI, G.; FAURE, G.C.; KNAPP, W.; LUDWIG, W.D.; MATUTES, E.; ORFAO, A.; VAN'T VEER, M.

Impact of immunophenotyping on management of acute leukemias. **Haematologica**, 84:1024–1034, 1999.

BENNETT, J.M.; CATOVSKY, D.; DANIEL, M.T.; FLANDRIN, G.; GALTON, D.A.; GRALNICK, H.R.; SUKTAN, C. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. **Br J Haematol**. 33: 451-8, 1976.

BERNARD, J.; MATHE, G.; BOULAY, J.; CEOARD, B.; CHOME, J. Acute promyelocytic leukemia: a study mode on 20 cases. **Schw Med Woch**. 89: 604-08, 1959.

BIONDI, A.; LUCIANO, A.; BASSAN, R.; MININNI, D.; SPECCHIA, G.; LANZI, E.; CASTAGNA, S.; CANTÙ-RAJNOLDI, A.; LISO, V.; MASERA, G. CD2 expression in acute promyelocytic leukemia is associated with microgranular morphology (FAB M3v) but not with any PML gene breakpoint. **Leuk Off J Leuk Soc Am Leuk Res Fund**, UK. 9:1461–1466, 1955.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de nº 2.048, de 3 de setembro de 2009. Disponível em: bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2009/prt2048_03_09_2009.htm l>. Acesso em: 06 de dezembro de 2013.

BRECCIA, M.; LATAGLIATA, R.; CANNELLA, L.; MINOTTI, C.; MELONI, G.; LO-COCO, F. Early hemorrhagic death before starting therapy in acute promyelocytic leukemia: association with high WBC count, late diagnosis and delayed treatment initiation. **Haematologica**, 95(5):853-854, 2010.

BRECCIA, M.; LOGLISCI, G.; LOGLISCI, G.M.; RICCI, R.; DIVERIO, D.; LATAGLIATA, R.; FOÀ, R.; LO-COCO, F. FLT3-ITD Internal Tandem Duplication Confers Poor Prognosis In Patients With Acute Promyelocytic Leukemia Treated With The AIDA Protocols. Long-Term Follow-Up Analysis. **Blood**, 122:1336, 2013.

BREEN, K.A.; GRIMWADE, D.; HUNT, B.J. The pathogenesis and management of the coagulopathy of acute promyelocytic leukaemia. **Br J Haematol**. 156:24–36, 2012.

BROCKMAN, S.R.; PATERNOSTER, S.F.; KETTERLING, R.P.; DEWALD, G.W. New highly sensitive fluorescence in situ hybridization method to detect PML-RAR α fusion in acute promyelocytic leukemia. **Cancer Genet Cytogenet**, 145:144-51, 2003.

BRUNNING, R.D.; MATUTES, E.; FLANDRIN, G.; VARDIMAN, J.; BENNETT, J.; HEAD, D.; et al. Acute myeloid leukaemia with recurrent genetic abnormalities. In: JAFFE, E.S.; HARRIS, N.L.; STEIN, H.; VARDIMAN, J.W. editors. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; p.81-7, 2001.

BURNETT, A.K.; GRIMWADE, D.; SOLOMON, E.; WHEATLEY, K.; GOLDSTONE, A.H. Presenting white blood cell count and kinetics of molecular remission predict prognosis in acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid: result of the Randomized MRC Trial, **Blood**, 4131–4143, 1999.

CAMACHO, L.; SOIGNET, S.; CHANEL, S.; HO, R.; HELLER, G.; SCHEINBERG, D.A.; ELLISON, R.; WARRELL, R.P.JR.; Leukocytosis and the retinoic acid syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with arsenic trioxide. **J Clin Oncol**, 18:2620-2625, 2000.

CASSINAT, B.; CHOMIENNE, C. Biological features of primary APL blasts: their relevance to the understanding of granulopoiesis, leukemogenesis and patient management. **Oncogene**, 20:7154-60, 2001.

CATALANO, A.; DAWSON, M.A.; SOMANA, K.; OPAT, S.; SCHAWARER, A.; CAMPBELL, L.J. The PRKAR1A gene is fused to RARA in a new variant acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 110:4073-6, 2007.

CERVERA, J.; MONTESINOS, P.; HERNÁNDEZ-RIVAS, J.M.; CALASANZ, M.J.; AVENTÍN, A.; FERRO, M.T.; LUÑO, E.; SÁNCHEZ, J.; VELLENGA, E.; RAYÓN, C.; MILONE, G.; DE LA SERNA, J.; RIVAS, C.; GONZÁLEZ, J.D.; TORMO, M.; AMUTIO, E.; GONZÁLEZ, M.; BRUNET, S.; LOWENBERG, B.; SANZ, M.A. Additional chromosome abnormalities in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and chemotherapy. **Haematologica**, 95:424–431, 2010.

CHANG, H.; KUO, M.-C.; SHIH, L.Y.; DUNN, P.; WANG, P.N.; WU, J.H.; LIN, T.L.; HUNG, Y.S.; TANG, T.C. Clinical bleeding events and laboratory coagulation profiles in acute promyelocytic leukemia. **Eur J Haematol**. 88:321–8, 2012.

CHANG, H.; KUO, M.-C.; SHIH, L.Y.; WU, J.H.; LIN, T.L.; DUNN, P.; TANG, T.C.; HUNG, Y.S.; WANG, P.N. Acute promyelocytic leukemia-associated thrombosis. **Acta Haematol**. 130:1–6, 2013.

CHAUFFAILLE, M.L.L.F.; FIQUEIREDO, M.S.; BELTRANI, R.; ANTUNES, S.V.; YAMAMOTO, M.; KERBAY, J. Acute promyelocytic leukemia: the study of t(15;17) translocation by fluorescent in situ hybridization, reverse transcriptase-polymerase chain reaction and cytogenetics techniques. **Braz J Med Biol Res.** 34:735-43, 2001.

CHEN, G.Q.; ZHU, J.; SHI, X.G.; NI, J.H.; ZHONG, H.J.; SI, G.Y.; JIN, X.L.; TANG, W.; LI, X.S.; XONG, S.M.; SHEN, Z.X.; SUN, G.L.; MA, J.; ZHANG, P.; ZHANG, T.D.; GAZIN, C.; NAOE, T.; CHEN, S.J.; WANG, Z.Y.; CHEN, Z. In vitro studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide (As₂O₃) in the treatment of acute promyelocytic leukemia: As₂O₃ induces NB4 cell apoptosis with downregulation of BCL-2 expression and modulation of PML-RAR α PML proteins. **Blood**, 88:1052-61, 1996.

CHEN, S.J.; ZELEN, A.; TONG, J.H.; YU, H.Q.; WANG, Z.Y.; DERRÉ, J.; BERGER, R.; WAXMAN, S.; CHEN, Z. Rearrangements of the retinoic acid receptor alpha and promyelocytic leukemia zinc finger genes resulting from t(11;17)(q23;q21) in a patient with acute promyelocytic leukemia. **J Clin Invest.** 91:2260-7, 1993.

CHEN, Z.; CHEN, G.Q.; SHEN, Z.X.; CHEN, S.J.; WANG, Z.Y. Treatment of acute promyelocytic leukemia with Arsenic compounds: in vitro and in vivo studies. **Semin Hematol.** 38:26-36, 2001.

CHEN, Z.; TONG, J.H.; DONG, S.; ZHU, J.; WANG, Z.Y.; CHEN, S.J. Retinoic acid regulatory pathways, chromosomal translocations, and acute promyelocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*, 15: 147-56, 1996.

CHILLON, M.C.; SANTAMARIA, C.; GARCIA-SANZ, R.; BALANZATEGUI, A.; MARIA, E.S.; ALCOCEBA, M.; MARÍN, L.; CABALLERO, M.D.; VIDRIALES, M.B.; RAMOS, F.; BERNAL, T.; DÍAZ-MEDIAVILLA, J.; GARCÍA DE COCA, A.; PEÑARRUBIA, M.J.; QUEIZÁN, J.A.; GIRALDO, P.; SAN MIGUEL, J.F.; GONZÁLEZ, M. Long FLT3 internal tandem duplications and reduced PML-RAR α expression at diagnosis characterize a high-risk subgroup of acute promyelocytic leukemia patients. **Haematologica**, 95(5):745-51, 2010.

CHOPPA, P.C.; GOMEZ, J.; VALL, H.G.; OWENS, M.; RAPPAPORT, H.; LOPATEGUI, J.R. A novel method for detection, quantitation, and breakpoint cluster region determination of t(15;17)

fusion transcripts using a one- step real-time multiplex RT-PCR. **Am J Clin Pathol.** 119:137-144, 2003.

CHOUDHRY, A.; DELOUGHERY, T.G. Bleeding and thrombosis in acute promyelocytic leukemia. **Am J Hematol.** Jun;87(6):596-603, 2012.

CONRAD, M.E. Treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide. **N Engl J Med.** 340(13):1043–1045, 1999.

COOPERBERG, A.A.; NEIMAN, G.M.A. Fibrinogenopenia and fibrinolysis in acute myelogenous leukemia. **Ann Intern Med.** 42: 707-11, 1955.

CRONKITE, E. Chemical leukemogenesis: Benzene as a model. **Sem Hematol.** 24: 2-4, 1987.

CRONKITE, E.P.; DREW, R.T.; INOUE, T.; HIRABAYASHI, Y.; BULLIS, J.E. Hematotoxicity and carcinogenicity of inhaled benzene. **Environ Health Perspect.** Jul;82:97–108, 1989.

DALAL, B. I.; MANSOOR, S.; MANNA, M.; PI, S.; SAURO, G. D.; HOGGE, D. E. Detection of CD34, TdT, CD56, CD2, CD4, and CD14 by flow cytometry is associated with NPM1 and FLT3 mutation status in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. **Clin Lymphoma Myeloma Leuk.** v. 12, n. 4, p. 274-9, 2012.

DE BOTTON, S.; CHEVRET, S.; SANZ, M.; DOMBRET, H.; THOMAS, X.; GUERCI, A.; FEY, M.; RAYON, C.; HUGUET, F.; SOTTO, J.J.; GARDIN, C.; CONY MAKHOUL, P.; TRAVADE, P.; SOLARY, E.; FEGUEUX, N.; BORDESSOULE, D.; SAN MIGUEL, J.; LINK, H.; DESABLENS, B.; STAMATOULLAS, A.; DECONINCK, E.; GEISER, K.; HESS, U.; MALOISEL, F.; CASTAIGNE, S.; PREUDHOMME, C.; CHOMIENNE, C.; DEGOS, L.; FENAUX, P; European APL Group. Additional chromosomal abnormalities in patients with acute promyelocytic leukaemia (APL) do not confer poor prognosis: results of APL 93 trial. **Br J Haematol.** 111:801-6, 2000.

DE BOTTON, S.; FAWAZ, A.; CHEVRET, S.; SANZ, M.; DOMBRET, H.; THOMAS, X.; GUERCI, A.; FEY, M.; SAN MIGUEL, J.; DE LA SERNA, J.; STOPPA, A.M.; REMAN, O.; STAMATOULAS, A.; CAHN, J.Y.; SOTTO, J.J.; BOURHIS, J.H.; PARRY, A.; CHOMIENNE, C.; DEGOS, L.; FENAUX, P; Autologous and allogeneic stem-cell transplantation as salvage treatment of acute

promyelocytic leukemia initially treated with all-trans-retinoic acid: a retrospective analysis of the European acute promyelocytic leukemia group. **J Clin Oncol.** 23:120–126, 2005.

DE STEFANO, V.; SORÀ, F.; ROSSI, E.; CHIUSOLO, P.; LAURENTI, L.; FIANCHI, L.; ZINI, G.; PAGANO, L.; SICA, S.; LEONE, G. The risk of thrombosis in patients with acute leukemia: occurrence of thrombosis at diagnosis and during treatment. **J Thromb Haemost.** 3:1985–1992, 2005.

DE THÉ, H.; CHOMIENNE, C.; LANOTTE, M.; DEGOS, L.; DEJEAN, A. The t(15;17) translocation of acute promyelocytic leukaemia fuses the retinoic acid receptor alpha gene to a novel transcribed locus. **Nature**, 347: 558-61, 1990.

DELLA PORTA, M.G. CD34 and CD2 expression in acute promyelocytic leukemia. **Haematologica**, 91(3):289C, 2006.

DESCHLER, B.; LUBBERT, M. Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology **Cancer**, 107:2099-107, 2006.

DOUER, D.; PRESTON-MARTIN, S.; CHANG, E.; NICHOLS, P.W.; WATKINS, K.J.; LEVINE, A.M. High frequency of acute promyelocytic leukemia among Latinos with acute myeloid leukemia. **Blood**, 87:308–313, 1996.

DOUER, D.; TALLMAN, M.S. Arsenic trioxide: new clinical experience with an old medication in hematologic malignancies. **J Clin Oncol.** 23:2396-2410, 2005.

DOUER, D. The epidemiology of acute promyelocytic leukaemia. **Best Pract. Res. Clin. Haematol.** 16:357–367, 2003.

ECLACHE, V.; VIGUIE, F.; FROCRAIN, C.; CASSINAT, B.; CHOMIENNE, C.; CYMBALISTA, F.; FENAUX, P. A new variant t (6;15;17)(q25;q22;q21) in acute promyelocytic leukemia: fluorescence in situ hybridization confirmation. **Cancer Genet Cytogenet.** 159:69-73, 2005.

ESCUDIER, S.M.; KANTARJIAN, H.M.; ESTEY, E.H. Thrombosis in patients with acute promyelocytic leukemia treated with and without all-trans retinoic acid. **Leuk Lymph.** 20:435, 1996.

ESTEY, E.H. Therapeutic options for acute myelogenous leukemia. **Cancer**, v.92, n.5, p.1059-73, 2001.

FALANGA, A.; RICKLES, F.R. Pathogenesis and management of the bleeding diathesis in acute promyelocytic leukaemia. **Best Pract Res Clin Haematol.** 16:463–482, 2003.

FALINI, B.; FLENGHI, L.; FAGIOLI, M.; LO-COCO, F.; CORDONE, I.; DIVERIO, D.; PASQUALUCCI, L.; BIONDI, A.; RIGANELLI, D.; ORLETH, A.; LISO, A.; MARTELLI, M.F.; PELICCI, P.G.; PILERI, S. Immunocytochemical diagnosis of acute promyelocytic leukemia (M3) with the monoclonal antibody PG-M3 (anti-PML). **Blood**, 90: 4046–4053, 1997.

FEDERICI, A.B.; FALANGA, A.; LATTUADA, A.; DI ROCCO, N.; BARBUI, P.M.; MANNUCCI, P.M. Proteolysis of von Willenbrand factor is decreased in acute promyelocytic leukemia by treatment with all-trans-retinoic acid. **Br J Haematol.** 92:733-9, 1996.

FENAUX, P.; CHOMIENNE, C.; DEGOS, L. All-trans Retinoic Acid and chemotherapy in the treatment of acute promyelocytic leukemia. **Semin Hematol.** 38:13-25, 2001.

FOLEY, R.; SOAMBOONSRUP, P.; BENDER, A.; CARTER, R.F.; MEYER, R.; WALKER, I.; WAN, Y.; PATTERSON, W.; ORZEL, A.; SUNISLOE, L.; LEBER, B.; NEAME, P.B. CD34-positive acute promyelocytic leukemia is associated with leukocytosis, microgranular/hypogranular morphology, expression of CD2 and bcr3 isoform. **Am J Hematol.** 67:34–41, 2001.

FREIFELD, A.G.; BOW, E.J.; SEPKOWITZ, K.A.; BOECKH, M.J.; ITO, J.I.; MULLEN, C.A.; RAAD, I.I.; ROLSTON, K.V.; YOUNG, J.A.; WINGARD, J.R.; Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis.** Feb 15;52(4):e56-93, 2011.

FUJITA, H.; ASOU, N.; WANAGA, M.; HYO, R.; NOMURA, S.; KIIYOI, H.; OKADA, M.; INAGUMA, Y.; MATSUDA, M.; YAMAUCHI, T.; OHTAKE, S.; IZUMI, T.; NAKASEKO, C.; ISHIGATSUBO, Y.; SHINAGAWA, K.; TAKESHITA, A.; MIYAZAKI, Y.; OHNISHI, K.; MIYAWAKI, S.; NAOE, T. Role of hematopoietic stem cell transplantation for relapsed acute promyelocytic leukemia: a retrospective analysis of JALSG-APL97. Japan Adult Leukemia Study Group. **Cancer Sci.** Oct;104(10):1339-45, 2013.

GALE, R.E.; HILLS, R.; PIZZHEY, A.R.; KOTTARIDIS, P.D.; SWIRSKY, D.; GILKES, A.F.; NUGENT, E.; MILLS, K.I.; WHEATLEY, K.; SOLOMON, E.; BURNETT, A.K.; LINCH, D.C.; GRIMWADE, D. NCRI Adult Leukaemia Working Party. Relationship between FLT3 mutation status, biologic characteristics, and response to targeted therapy in acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 106: 3768-76, 2005.

GALLAGHER, R.E.; MOSER, B.K.; RACEVSKIS, J.; POIRÉ, X.; BLOOMFIELD, C.D.; CARROLL, A.J.; KETTERLING, R.P.; ROULSTON, D.; SCHACHTER-TOKARZ, E.; ZHOU, D.C.; CHEN, I.M.; HARVEY, R.; KOVAL, G.; SHER, D.A.; FEUSNER, J.H.; TALLMAN, M.S.; LARSON, R.A.; POWELL, B.L.; APPELBAUM, F.R.; PAIETTA, E.; WILLMAN, C.L.; STOCK, W. Treatment-influenced associations of PML-RAR mutations, FLT3 mutations, and additional chromosome abnormalities in relapsed acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 120:2098–2108, 2012.

GRIMWADE, D.; BIONDI, A.; MOZZICONACCI, M.J.; HAGEMEIJER, A.; BERGER, R.; NEAT, M.; HOWE, K.; DASTUGUE, N.; JANSEN, J.; RADFORD-WEISS, I.; LO-COCO, F.; LESSARD, M.; HERNANDEZ, J.M.; DELABESSE, E.; HEAD, D.; LISO, V.; SAINTY, D.; FLANDRIN, G.; SOLOMON, E.; BIRG, F.; LAFAGE-POCHITALOFF, M. Characterization of acute promyelocytic leukemia cases lacking the classic t(15;17): results of the European Working Party. **Blood**, 96: 1297-1308, 2000.

GRIMWADE, D.; LO-COCO, F. Acute promyelocytic leukemia: a model for the role of molecular diagnosis and residual disease monitoring in directing treatment approach in acute myeloid leukemia. **Leukemia**, 16:1959-73, 2002.

GRIMWADE, D. The pathogenesis of acute promyelocytic leukaemia: evaluation of the role of molecular diagnosis and monitoring in the management of the disease. **Br J Haematol**. 106:591-613, 1999.

GU, B.W.; XIONG, H.; ZHOU, Y.; CHEN, B.; WANG, L.; DONG, S.; YU, Z.Y.; LU, L.F.; ZHONG, M.; YIN, H.F.; ZHU, G.F.; HUANG, W.; REN, S.X.; GALLAGHER, R.E.; WAXMAN, S.; CHEN, G.Q.; WANG, Z.G.; CHEN, Z.; FU, G.; CHEN, S.J. Variant-type PMLRAR(alpha) fusion transcript in acute promyelocytic leukemia: use of acryptic coding sequence from intron 2 of the RAR(alpha) gene and

identification of a new clinical subtype resistant to retinoic acid therapy. **Proc Natl Acad Sci USA**.99:7640-45, 2002.

GURRIERI, C.; CAPODIENCI, P.; BERNARDI, R.; SCAGLIONI, P.P.; NAFA, K.; RUSH, L.J. Loss of the tumor suppressor PML in human cancer of multiple histologic origins. **J Natl Cancer Inst**. 96:269-79, 2004.

HAFERLACH, T.; KOHLMANN, A.; SCHNITTGER, S.; DUGAS, M.; HIDDEMANN, W.; KERN, W.; SCHOCH, C. AML M3 and AML M3 variant each have a distinct gene expression signature but also share patterns different from other genetically defined AML subtypes. **Genes Chromosomes Cancer**, 43:113-127, 2005.

HERNÁNDEZ, J.M.; MARTÍN, G.; GUTIÉRREZ, C.G.; CERVERA, J.; FERRO, M.T.; CALASANZ, M.J.; MARTÍNEZ-CLIMENT, J.A.; LUÑO, E.; TORMO, M.; RAYÓN, C.; DÍAZ-MEDIAVILLA, J.; GONZÁLEZ, M.; GONZÁLEZ-SAN MIGUEL, J.D.; PÉREZ-EQUIZA, K.; RIVAS, C.; ESTEVE, J.; ALVAREZ MDEL, C.; ODRIOZOLA, J.; RIBERA, J.M.; SANZ, M.A. PETHA Cooperative Group, Spain. Additional cytogenetic change do not influence the outcome of patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia treated with an ATRA plus antracyclin based protocol. A report of the Spanish group Pethema. **Haematologica**, 86:807-13, 2001.

HILLESTAD, L.K. Acute promyelocytic leukemia. **Acta Med Scand**. 159:189-94, 1957.

HIORNS, L.R.; SWANSBURY, G.L.; MEHTA, J.; MIN, T.; DAINTON, M.G.; TRELEAVEN, J.; POWLES, R.L.; CATOVSKY, D. Additional chromosome abnormalities confer worse prognosis in acute promyelocytic leukaemia. **Br J Haematol**. 96:314-21, 1997.

HOEMME, C.; PEERZADA, A.; BEHRE, G.; WANG, Y.; MCCLELLAND, M.; NIESELT, K. Chromatin modifications induced by PML-RAR α repress critical targets in leukemogenesis as analyzed by ChiP-Chip. **Blood**, 111:2887-95, 2008.

HOFFMAN, R. et al, Hematology: Basic principles and practice; 5^a ed., 2008.

HORMAECHE, I.; LICHT, J. Chromatin modulation by oncogenic transcription factors: new complexity, new therapeutic targets. **Cancer Cell**.11:475-78, 2007.

HUANG, M.E.; YE, Y.C.; CHEN, S.R.; CHAI, J.R.; LU, J.X.; ZHAO, L.; GU, L.J.; WANG, Z.Y. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 72:567–572, 1988.

INCA. Estimativa 2013: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: **INCA**, 2012.

IRONS, R.D.; STILLMAN, W.S. The process of leukemogenesis. **Environ Health Perspect.** 104 Suppl 6:1239–1246, 1996.

JABBOUR, E.J.; ESTEY, E.; KANTAJIAN, H.M. Adult acute myeloid leukemia: diagnosis and treatment. **Mayo Clin Proc.** 81:247–60, 2006.

JÁCOMO, R.H.; FIGUEREDO-PONTES, L.; REGO, E.M. Do paradigma molecular ao impacto no prognóstico: uma visão da leucemia promielocítica aguda. **Ver Assoc Méd Brás.** 54:82–9, 2008.

JÁCOMO, R.H.; MELO, R.; SOUTO, F.R.; MATTOS, E.R.; OLIVEIRA, C.T.; FAGUNDES, E.M.; BITTENCOURT, H.N.; BITTENCOURT, R.I.; BORTOLHEIRO, T.C.; PATON, E.J.; BENDLIN, R.; ISMAEL, S.; CHAUFFAILLE, M.DE.L.; SILVA, D.; PAGNANO, K.B.; RIBEIRO, R.; REGO, E.M. Clinical features na outcomes of 134 Brazilians with acute promyelocytic leukemias who received ATRA and anthracyclines. **Haematologica**, 92:1431–2, 2007.

JAFFE, E. S.; HARRIS, N. L.; STEIN, H.; VARDIMAN, J. W. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lion: IARC Press, 352p, 2001.

JEDDI, R.; GHÉDIRA, H.; AMOR, R.BEN.; MENIF, S.; BELHADJALI, Z.; MEDDEB, B. Recurrent differentiation syndrome or septic shock? Unresolved dilemma in a patient with acute promyelocytic leukemia. **Med Oncol.** 28:279–281, 2011.

KAKIZUKA, A.; MILLER, W.H.JR.; UMESONO, K.; WARRELL, R.P.JR.; FRANKEL, S.R.; MURTY, V.V.; DMITROVSKY, E.; EVANS, R.M. Cromossomal translocation t(15;17) in human acute promyelocytic leukemia fuses RAR alpha with a novel putative transcription factor, PML. **Cell**, 66:663–74, 1991.

KALINA, T.; FLORES-MONTERO, J.; VAN DER VELDEN, V.H.J.; MARTIN-AYUSO, M.; BÖTTCHER, S.; RITGEN, M.; ALMEIDA, J.; LHERMITTE, L.; ASNAFI, V.; MENDONÇA, A.; DE TUTE, R.; CULLEN, M.; SEDEK, L.; VIDRIALES, M.B.; PÉREZ, J.J.; TE

MARVELDE, J.G.; MEJSTRIKOVA, E.; HRUSAK, O.; SZCZEPAŃSKI, T.; VAN DONGEN, J.J.; ORFAO, A. EuroFlow Consortium. EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. **Leukemia**, 26:1986–2010, 2012.

KAMASHEV, D.; VITOUX, D.; DE THE, H. PML-RAR α – RXR oligomers mediate retinoid and rexinoid/ cAMP cross- talk in acute promyelocytic leukemia cell differentiation. **J Exp Med**. 199:1163-74, 2004.

KANDA, Y.; HAMAKI, T.; YAMAMOTO, R.; CHIZUKA, A.; SUGURO, M.; MATSUYAMA, T.; TAKEZAKO, N.; MIWA, A.; KAMI, M.; HIRAI, H.; TOGAWA, A. The clinical significance of CD34 expression in response to therapy of patients with acute myeloid leukemia: an overview of 2483 patients from 22 studies. **Cancer**, 88(11):2529-2533, 2000.

KANTARJIAN, H.M.; KEATING, M.J.; WALTERS, R.S.; SMITH, T.L.; MCCREDIE, K.B.; FREIREICH, E.J. Role of maintenance chemotherapy in acute promyelocytic leukemia. **Cancer**, 59(7):1258–1263, 1987.

KASTNER P, CHAN S. Function of RAR α during the maturation of neutrophils. **Oncogene**, 20: 7178-85, 2001.

KELLY, L.M., YU, J-C., BOULTON, C.L., APATIRA, M., LI, J., SULLIVAN, C.M., WILLIAMS, I., AMARAL, S.M., CURLEY, D.P., DUCLOS, N., NEUBERG, D., SCARBOROUGH, R.M., PANDEY, A., HOLLENBACH, S., ABE, K., LOKKER, N.A., GILLILAND, D.G., GIESE, N.A. CT53518, a novel selective FLT3 antagonist for the treatment of acute myelogenous leukemia (AML). **Cancer Cell**. 1:421–432, 2002.

KIYOI, H.; NAOE, T.; NAKANO, Y.; YOKOTA, S.; MINAMI, S.; MIYAWAKI, S.; ASOU, N.; KURIYAMA, K.; JINNAI, I.; SHIMAZAKI, C.; AKIYAMA, H.; SAITO, K.; OH, H.; MOTOJI, T.; OMOTO, E.; SAITO, H.; OHNO, R.; UEDA, R. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. **Blood**, v. 93, n. 9, p. 3074-80, 1999.

KONDO, T.; MORI, A.; DARMANIN, S.; HASHINO, S.; TANAKA, J.; ASAKA, M. The seventh pathogenic fusion gene FIP1L1-RARA was

isolated from a t(4;17)-positive acute promyelocytic leukemia. **Haematologica**, 93:1414-16, 2008.

KOTTARIDIS, P. D.; GALE, R. E.; FREW, M. E.; HARRISON, G.; LANGABEER, S. E.; BELTON, A. A.; WALKER, H.; WHEATLEY, K.; BOWEN, D. T.; BURNETT, A. K.; GOLDSTONE, A. H.; LINCH, D. C. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. **Blood**, v. 98, n. 6, p. 1752-9, 2001.

KUSSICK, S.J.; STIREWALT, D.L.; YI, H.S.; SHEETS, K.M.; POGOSOVA-AGADJANYAN, E.; BRASWELL, S.; NORWOOD, T.H.; RADICH, J.P.; WOOD, B.L. A distinctive nuclear morphology in acute myeloid leukemia is strongly associated with loss of HLA-DR expression and FLT3 internal tandem duplication. **Leuk Off J Leuk Soc Am Leuk Res Fund**, UK. 18:1591-1598, 2004.

KWAAN, H.C.; WANG, J.; BOGGIO, L.N. Abnormalities in hemostasis in acute promyelocytic leukemia. **Hematol Oncol**. 20:33-41, 2002.

LALLEMAND-BREITENBACH, V.; JEANNE, M.; BENHENDA, S.; NASR, R.; LEI, M.; PERES, L.; ZHOU, J.; ZHU, J.; RAUGHT, B.; DE THÉ, H. Arsenic degrades PML or PML-RAR α through a SUMO-triggered RNF4/ubiquitin-mediated pathway. **Nat Cell Biol**. 10:547-55, 2008.

LEAL, A.M.; KUMEDA, C.A.; VELLOSO, E.D.R.P. Características genéticas da leucemia promielocítica aguda de novo. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**. vol.31, n.6 ISSN 1516-8484, 2009.

LEE, D.S.; LEE, Y.S.; KIM, Y.R.; HAN, K.S.; PARK, K.U.; SHE, C.J.; KIM, E.C.; PARK, S.Y.; CHO, H.I. RARA fluorescence in situ hybridization overcomes the drawback of PML-RAR α fluorescence in situ hybridization in follow-up of acute promyelocytic leukemia. **Cancer Genet Cytogenet**. 139: 104-108, 2002.

LEE, J-J.; CHO, D.; CHUNG, I-J.; CHO, S.H.; PARK, K.S.; PARK, M.R.; RYANG, D.W.; KIM, H.J. CD34 expression is associated with poor clinical outcome in patients with acute promyelocytic leukemia. **Am J Hematol**. 73:149-153, 2003.

LEHMANN, S.; RAVN, A.; CARLSSON, L.; ANTUNOVIC, P.; DENEGER, S.; MÖLLGÅRD, L.; DEROLF, A.R.; STOCKELBERG, D.; TIDEFELT, U.; WAHLIN, A.; WENNSTRÖM, L.; HÖGLUND, M.; JULIUSSON, G. Continuing high early death rate in acute promyelocytic leukemia: a population-based report from the Swedish Adult Acute Leukemia Registry. **Leuk Off J Leuk Soc Am Leuk Res Fund**, UK. 25:1128–1134, 2011.

LENGFELDER, E.; SAUSSELE, S.; WEISSER, A.; BÜCHNER, T.; HEHLMANN, R. Treatment concepts of acute promyelocytic leukemia. **Crit Rev Oncol Hematol**. 56:261–274, 2005.

LICÍNIO, M. A.; SANTOS-SILVA, M. C. Importance of detecting FLT3 and NPM1 gene mutations in acute myeloid leukemia - World Health Organization Classification 2008. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 32, n. 6, p. 476-481, 2010.

LISO, V.; BENNET, J. Morphological and cytochemical characteristics of leukaemic promyelocytes. **Best Practic & Research**, 16:349-55, 2003.

LO-COCO, F.; AVVISATI, G.; DIVERIO, D.; PETTI, M.C.; ALCALAY, M.; PANDOLFI, P.P.; ZANGRILLI, D.; BIONDI, A.; RAMBALDI, A.; MOLETI, M.L. Molecular evaluation of response to all-trans-retinoic acid therapy in patients with acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 77(8):1657–1659, 1991.

LO-COCO, F.; DIVERIO, D.; FALINI, B.; BIONDI, A.; NERVI, C.; PELICCI, P.G. Genetic diagnosis and molecular monitoring in the management of acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 94(1):12–22, 1999.

LOCK, R.J.; VIRGO, P.F.; KITCHEN, C.; EVELY, R.S. Rapid diagnosis and characterization of acute promyelocytic leukaemia in routine laboratory practice. **Clin lab Haem**. 26: 101-06, 2004.

LO-COCO, F.; AMMATUNA, E. The biology of acute promyelocytic leukemia and its impact on diagnosis and treatment. **Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program**. 156–161, 514, 2006.

LO-COCO, F.; AVVISATI, G.; VIGNETTI, M.; THIEDE, C.; ORLANDO, S.M.; IACOBELLI, S.; FERRARA, F.; FAZI, P.; CICONI, L.; DI BONA, E.; SPECCHIA, G.; SICA, S.; DIVONA, M.; LEVIS, A.; FIEDLER, W.; CERQUI, E.; BRECCIA, M.; FIORITONI, G.; SALIH, H.R.; CAZZOLA, M.; MELILLO, L.; CARELLA, A.M.;

BRANDTS, C.H.; MORRA, E.; VON LILIENFELD-TOAL, M.; HERTENSTEIN, B.; WATTAD, M.; LÜBBERT, M.; HÄNEL, M.; SCHMITZ, N.; LINK, H.; KROPP, M.G.; RAMBALDI, A.; LA NASA, G.; LUPPI, M.; CICERI, F.; FINIZIO, O.; VENDITTI, A.; FABBIANO, F.; DÖHNER, K.; SAUER, M.; GANSER, A.; AMADORI, S.; MANDELLI, F.; DÖHNER, H.; EHNINGER, G.; SCHLENK, R.F.; PLATZBECKER, U. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto; German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group; Study Alliance Leukemia. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. **N. Engl. J. Med.** 369:111–21, 2013.

LO-COCO, F.; DIVERIO, D.; FALINI, B.; BIONDI, A.; NERVI, C.; PELICCI, P.G. Genetic diagnosis and molecular monitoring in the management of acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 97:12-22, 1999.

LO-COCO, F.; ROMANO, A.; MENGARELLI, A.; DIVERIO, D.; IORI, A.P.; MOLETI, M.L.; DE SANTIS, S.; CERRETTI, R.; MANDELLI, F.; ARCESE, W. Allogeneic stem cell transplantation for advanced acute promyelocytic leukemia: results in patients treated in second molecular remission or with molecularly persistent disease. **Leukemia**, 17(10):1930–1933, 2003.

LUATTI, S.; MARZOCCHI, G.; OTTAVIANI, E.; BALDAZZI, C.; STACCHINI, M.; GAMBERINI, C.; SALMI, F.; MARTINELLI, G.; BACCARANI, M.; TESTONI, N. Acute promyelocytic leukemia with amplification of PML-RAR α rearrangement: clinical implications. **Leuk Res.** 32: 1941-3, 2008.

MALTA COREA, A.; PACHECO, E.C.; CANTÚ, R.A.; CONTER, V.; LIETTI, G.; MASERA, G.; SESSA, C.; CAVALLI, F.; BIONDI, A.; ROVELLI, A. Childhood acute promyelocytic leukemia in Nicaragua. **Ann Oncol.** 1:892-94, 1993.

MANDELLI, F.; AVVISATI, G.; LO-COCO, F. Advances in the understanding and management of acute promyelocytic leukemia. **Clin Exp Hematol.** 6:60-71, 2002.

MATSUSHITA, H.; SCAGLIONI, P.P.; BHAUMIK, M.; REGO, E.M.; CAI, L.F.; MAJID, S.M.; MIYACHI, H.; KAKIZUKA, A.; MILLER, W.H.JR.; PANDOLFI, P.P. In vivo analysis of the role of aberrant histone deacetylase recruitment and RAR blockade in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. **J Exp Med.** 203:821-28, 2006.

MCKENNA, R.W.; PARKIN, J.; BLOOMFIELD, C.D.; SUNDBERG, R. D.; BRUNNING, R.D. Acute promyelocytic leukaemia: a study of 39 cases with identification of hyperbasophilic microgranular variant. **Br J Haematol.** 50:201-14, 1982.

MEIJERS, J.C.; OUDIJK, E.J.; MOSNIER, L.O.; BOS, R.; BOUMA, B.N.; NIEUWENHUIS, H.K.; FIJNHEER, R. Reduced activity of TAFI (thrombin-activable fibrinolysis inhibitor) in acute promyelocytic leukemia. **Br J Haematol.** 108:515-23, 2000.

MÉIS, E.; LEVY, R.A. Câncer e trombose: uma revisão da literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 53:183-193, 2007.

MELNICK, A.; LICHT, J.D. Deconstructing a disease: RAR α , its fusion partners, and their roles in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 93:3167-3215, 1999.

MELO, R.A.M.; VASCONCELLOS, J.F.; MELO, F.C.B.; MACHADO, C.G.F.; LACERDA, T.M.S.; SOUTO, F.R. PML-RAR α fusion gene transcripts and biological features in acute promyelocytic leukemia. **Clin Lab Haem.** 28:126-29, 2006.

MENDITI, K.B.C.; KANG, H.C. O papel das proteínas histonas nas neoplasias hematológicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 53:453-460, 2007.

MENELL, J.S.; CESARMAN, G.M.; JACOVINA, A.T.; MCLAUGHLIN, M.A.; LEV, K.A.; HAJJAR, K.A. Annexin II and bleeding in acute promyelocytic leukemia. **N Engl J Med.** 340:994-1004, 1999.

MILLER, W.H.; SCHIPPER, H.M.; LEE, J.S.; SINGER, J.; WAXMANS, S. Mechanisms of action of arsenic trioxide. **Cancer Res.** 62:3893-3903, 2002.

MISTRY, A.R.; PEDERSEN, E.W.; SOLOMON, E.; GRIMWADE, D. The molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukaemia: Implications for the clinical management of the disease. **Blood Rev.** 17:71-97, 2003.

MITROVIC, M.; SUVAJDZIC, N.; BOGDANOVIC, A.; KURTOVIC, N.K.; SRETENOVIC, A.; ELEZOVIC, I.; DRAGICA, T. International Society of Thrombosis and Hemostasis Scoring System for disseminated intravascular coagulation ≥ 6 : a new predictor of hemorrhagic early death in acute promyelocytic leukemia. **Med Oncol.** 30:478, 2013.

MROZEK, K.; MARCUCCI, G.; PASCHKA, P.; WHITMAN, S.P.; BLOOMFIELD, C.D. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? **Blood**, 109:431-448, 2007.

NERVI, C.; FERRARA, F.F.; FANELLI, M.; RIPPO, M.R.; TOMASSINI, B.; FERRUCCI, P.F.; RUTHARDT, M.; GELMETTI, V.; GAMBACORTI-PASSERINI, C.; DIVERIO, D.; GRIGNANI, F.; PELICCI, P.G.; TESTI, R. Caspases mediate retinoic acid-induced degradation of the acute promyelocytic leukemia PML-RARalpha fusion protein. **Blood**, 92: 2244-51, 1998.

NOGUERA, N.I.; BRECCIA, M.; DIVONA, M.; DIVERIO, D.; COSTA, V.; DE SANTIS, S.; AVVISATI, G.; PINAZZI, M.B.; PETTI, M.C.; MANDELLI, F.; LO-COCO, F. Alterations of the FLT3 gene in acute promyelocytic leukemia: association with diagnostic characteristics and analysis of clinical outcome in patients treated with the Italian AIDA protocol. **Leukemia**, 16(11):2185-2189, 2002.

OELSCHLAEGEL, U.; MOHR, B.; SCHAICH, M.; SCHÄKEL, U.; KROSCHINSKY, F.; ILLMER, T.; EHNINGER, G.; THIEDE, C. HLA-DRneg patients without acute promyelocytic leukemia show distinct immunophenotypic, genetic, molecular, and cytomorphologic characteristics compared to acute promyelocytic leukemia. **Cytometry B Clin Cytom.** 76:321-327, 2009.

OHNISHI, K. PML-RARalpha inhibitors (ATRA, tamibaroten, arsenic trioxide) for acute promyelocytic leukemia. **Int J Clin Oncol / Japan Soc Clin Oncol.** 12:313-317, 2007.

OKEN, M.M.; CREECH, R.H.; TORMEY, D.C.; HORTON, J.; DAVIS, T.E.; MCFADDEN, E.T.; CARBONE, P.P. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. **Am J Clin Oncol.** 5:649-656, 1982.

ORFAO, A.; CHILLON, M.C.; BORTOLUCI, A.M.; LOPEZ-BERGES, M.C.; GARCIA-SAZ, R.; GONZALES, M.; TABERNERO, M.D.; GARCÍA-MARCOS, M.A.; RASILLO, A.I.; HERNÁNDEZ-RIVAS, J.; SAN MIGUEL, J.F. The flow cytometric pattern of CD34, CD15 and CD13 expression in acute myeloblastic leukemia is highly characteristic of the presence of PML-Ralpha gene rearrangements. **Haematologica**, 84:405-12, 1999.

PANTIC, M.; NOVAK, A.; MARISAVLJEVIC, D.; DJORDJEVIC, V.; ELEZOVIC, I.; VIDOVIC, A.; COLOVIC, M. Additional chromosome aberrations in acute promyelocit leukemia: characteristics and prognostic influence. **Med Oncol.** 17:307-13, 2000.

PARK, J.H.; QIAO, B.; PANAGEAS, K.S.; SCHYMURA, M.J.; JURCIC, J.G.; ROSENBLAT, T.L.; ALTMAN, J.K.; DOUER, D.; ROWE, J.M.; TALLMAN, M.S. Early death rate in acute promyelocytic leukemia remains high despite all-trans retinoic acid. **Blood**, 118:1248–1254, 2011.

PARK, S.; LEE, S.J.; KIM, K.; JANG, J.H.; KIM, D.H.; LEE, K.H.; LEE, J.H.; LEE, J.H.; KIM, D.Y.; JANG, D.Y.; KIM, H.; PARK, J.H.; RYOO, H.M.; BAE, S.H.; KIM, M.K.; HYUN, M.S.; JOO, Y.D.; LEE, W.S.; LEE, S.M.; JUNG, C.W. Inclusion of hemoglobin level in prognostic score provides better prognostic stratification in patients with acute promyelocytic leukemia (APL). **Int J Hematol.** Mar;97(3):388-9, 2013.

PISCIOTTA, A.V.; SCHULTZ, J.E. Fibrinolytic púrpura in acute leukemia. **Am J Med.** 19: 824-28, 1955.

PUI, C.H.; EVANS, W.E. Acute lymphoblastic leukemia. **N Engl J Med.** v.339, n.9, 605-15, 1998.

REDNER, R.L. Variations on theme: the alternate translocations in APL. **Leukemia**, 16:1927-32, 2002.

REGO, E.M.; JÁCOMO, R.H. Epidemiology and Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia in Latin America. **Mediterr J Hematol Infect Dis.** 3:e2011049, 2011.

REGO, E.M.; KIM, H.T.; RUIZ-ARGUELLES, G.J.; UNDURRAGA, M.S.; URIARTE MDEL, R.; JACOMO, R.H.; GUTIÉRREZ-AGUIRRE, H.; MELO, R.A.; BITTENCOURT, R.; PASQUINI, R.; PAGNANO, K.; FAGUNDES, E.M.; CHAUFFAILLE, M.DE.L.; CHIATTONE, C.S.; MARTINEZ, L.; MEILLÓN, L.A.; GÓMEZ-ALMAGUER, D.; KWAAN, H.C.; GARCÉS-EISELE, J.; GALLAGHER, R.; NIEMEYER, C.M.; SCHRIER, S.L.; TALLMAN, M.; GRIMWADE, D.; GANSER, A.; BERLINER, N.; RIBEIRO, R.C.; LO-COCO, F.; LÖWENBERG, B.; SANZ, M.A. Improving acute promyelocytic leukemia (APL) outcome in developing countries through networking, results of the International Consortium on APL. **Blood**, 121(11):1935–1943, 2013.

REGO, E.M.; KIM, H.T.; RUIZ-ARGUELLES, G.J.; URIARTE MDEL, R.; JACOMO, R.H.; GUTIÉRREZ-AGUIRRE, H.; MELO, R.A.; BITTENCOURT, R.; PASQUINI, R.; PAGNANO, K.; FAGUNDES, E.M.; CHAUFFAILLE, M.DEL.; CHIATTONE, C.; MARTINEZ, L.; MEILLÓN, L.A.; GÓMEZ-ALMAGUER, D.; KWAAN, H.; GARCÉS-EISELE, J.; GALLAGHER, R.; NIEMEYER, C.M.; LOWENBERG, B.; RIBEIRO, R.; LO-COCO, F.; SANZ, M.A. The impact of medical education and networking on the outcome of leukemia treatment in developing countries. The experience of International Consortium on Acute Promyelocytic Leukemia (IC-APL). **Hematology**. 17 Suppl 1:S36, 2012.

REGO, E.M. The results of the International Consortium on Acute Promyelocytic Leukemia: a “proof of concept” of networking as a strategy to improve the outcome of treatment of hematological malignancies in developing countries. **Rev Bras Hematol Hemoter**. 35(1):1–2, 2013.

REINDL, C.; BAGRINTSEVA, K.; VEMPATI, S.; SCHNITTGER, S.; ELLWART, J. W.; WENIG, K.; HOPFNER, K-P.; HIDDEMANN, W.; SPIEKERMANN, K. Point mutations in the juxtamembrane domain of FLT3 define a new class of activating mutations in AML. **Blood**, v.107, n.9, p.3700-8, 2006.

REITER, A.; LENGFELDER, E.; GRIMWADE, D. Pathogenesis, diagnosis and monitoring of residual disease in acute promyelocytic leukaemia. **Acta Haematol**. 112:55-57, 2004.

RIBEIRO, R.C.; REGO, E. Management of APL in developing countries: epidemiology, challenges and opportunities for international collaboration. **Am Soc Hematol Educ Program**. 162-68, 2006.

RIZZATI, E.G.; PORTIERES, F.L.; MARTINS, S.L.R.; REGO, E.M.; ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; Microgranular and t(11;17)/ PLZF-RAR α variantes of acute promyelocytic leukemia also presente the flow cytometric patter of CD13, CD34 and CD15 expression characteristic of PMLRA α gene rearrangement. **Am J Hematol**. 76: 44-51, 2004.

ROWLEY, J.D.; GOLOMB, H.M.; DOUGHERTY, C. 15/17 translocation, a consistent chromosomal change in acute promyelocytic leukaemia. **Lancet**, 1:549-50, 1977.

RUIZ-ARGUELLES, G.J.; GRACES-EISELE, J.; REYES-NUNES, V.; GOMEZ- RANGEL, J.D.; RUIZ-DELGADO, G.J. More on geographic

hematology: the breakpoint cluster regions of the PML-RARalpha fusion gene in Mexican Mestizo patients with promyelocytic leukemia are different from those in Caucasians. **Leuk Lymphoma**. 45:1365-68, 2004.

SAGRILLO, M. R.; CARDOSO, S. H.; SILVA L. R. J.; GRAÇA C. H. N.; FERREIRA, E.; HAMERSCHLACK, N.; GUERRA, J. C. C.; BACAL, N. S.; ANDRADE, J. A. D.; BOROVNIK, C. L. Leucemia promielocítica aguda: caracterização de alterações cromossômicas por citogenética tradicional e molecular (FISH). **Rev bras hematol hemoter**. v.27, n.2, p.94-101, 2005.

SAINTY, D.; LISO, V.; CANTU-RAJNOLDI, A.; HEAS, D.; MOZZICONACCI, M.J.; ARNOULET, C.; BENATTAR, L.; FENU, S.; MANCINI, M.; DUCHAYNE, E.; MAHON, F.X.; GUTIERREZ, N.; BIRG, F.; BIONDI, A.; GRIMWADE, D.; LAFAGE-POCHITALOFF, M.; HAGEMEIJER, A.; FLANDRIN, G. Groupe Français d'Hématologie Cellulaire; Groupe Français de Cytogénétique Hématologique; UK Cancer Cytogenetics Group; BIOMED 1 European Community-Concerted Action "Molecular Cytogenetic Diagnosis in Haematological Malignances. A new morphological classification system for acute promyelocytic leukemia distinguishes cases with underlying PLZF-RARA rearrangements. **Blood**, 96:1287-96, 2000.

SANZ, M.A.; FENAUX, P.; LO-COCO, F. Arsenic trioxide in the treatment of acute promyelocytic leukemia. A review of current evidence. **Haematologica**, 90(9):1231-1235, 2005.

SANZ, M.A.; GRIMWADE, D.; TALLMAN, M.S.; LOWENBERG, B.; FENAUX, P.; ESTEY, E.H.; NAOE, T.; LENGFELDER, E.; BÜCHNER, T.; DÖHNER, H.; BURNETT, A.K.; LO-COCO, F. Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. **Blood**, 113(9):1875-1891, 2009.

SANZ, M.A.; LABOPIN, M.; GORIN, N.C.; E ARCESE, W.; MELONI, G.; BACIGALUPO, A.; ALESSANDRINO, P.; CARRERAS, E.; IRIONDO, A.; NOVITZKY, N.; JACOBS, P.; BANDINI, G.; LO-COCO, F.; FRASSONI, F.; ROCHA, V. Acute Leukemia Working Party (ALWP) of European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Hematopoietic stem cell transplantation for adults with acute promyelocytic leukemia in the

ATRA era: a survey of the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation. **Bone Marrow Transpl.** 39(8):461–469, 2007.

SANZ, M.A.; LO-COCO, F.; MARTIN, G.; AVVISATI, G.; RAYÓN, C.; BARBUI, T.; DÍAZ-MEDIAVILLA, J.; FIORITONI, G.; GONZÁLEZ, J.D.; LISO, V.; ESTEVE, J.; FERRARA, F.; BOLUFER, P.; BERNASCONI, C.; GONZALEZ, M.; RODEGHIERO, F.; COLOMER, D.; PETTI, M.C.; RIBERA, J.M.; MANDELLI, F. Definition of relapse risk and role of nonanthracycline drugs for consolidation in patients with acute promyelocytic leukemia: a joint study of the PETHEMA and GIMENA cooperative groups. **Blood**, 96:1247-53, 2000.

SANZ, M.A.; MARTIN, G.; GONZALEZ, M.; RAYÓN, C.; HOLOWIECKA, A.; DE LA SERNA, J.; MILONE, G.; DE LISA, E.; BRUNET, S.; RUBIO, V.; RIBERA, J.M.; RIVAS, C.; KRSNIK, I.; BERGUA, J.; GONZÁLEZ, J.; DÍAZ-MEDIAVILLA, J.; ROJAS, R.; MANSO, F.; OSSENKOPPELE, G.; GONZÁLEZ, J.D.; LOWENBERG, B. PETHEMA and HOVON Groups. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans-retinoic acid and anthracycline monochemotherapy: a multicenter study by the PETHEMA group. **Blood**, 103(4):1237–1243, 2004.

SANZ, M.A.; MARTIN, G.; GONZALEZ, M.; RAYÓN, C.; GONZÁLEZ, J.D.; ESTEVE, J.; DÍAZ-MEDIAVILLA, J.; BOLUFER, P.; BARRAGÁN, E.; TEROL, M.J.; COLOMER, D.; CHILLÓN, C.; RIVAS, C.; GÓMEZ, T.; RIBERA, J.M.; BORNSTEIN, R.; ROMÁN, J.; CALASANZ, M.J.; ARIAS, J.; ALVAREZ, C.; RAMOS, F.; DEBÉN, G. A modified AIDA protocol with anthracycline-based consolidation results in high antileukemic efficacy and reduced toxicity in newly diagnosed PML-RARalpha-positive acute promyelocytic leukemia. PETHEMA group. **Blood**, 3015–3021, 1999.

SANZ, M.A.; MONTESINOS, P.; RAYÓN, C.; HOLOWIECKA, A.; DE LA SERNA, J.; MILONE, G.; DE LISA, E.; BRUNET, S.; RUBIO, V.; RIBERA, J.M.; RIVAS, C.; KRSNIK, I.; BERGUA, J.; DE LA SERNA, J.; MILONE, G.; DÍAZ-MEDIAVILLA, J.; ROJAS, R.; MANSO, F.; OSSENKOPPELE, G.; GONZÁLEZ, J.D.; LOWENBERG, B. PETHEMA and HOVON Groups. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia based on all-trans retinoic acid and anthracycline with addition of cytarabine in consolidation therapy for high-risk patients: further improvements in treatment outcome. **Blood**, 115(25):5137–5146, 2010.

SANZ, M.A.; MONTESINOS, P.; RAYÓN, C.; DE LA SERNA, J.; MILONE, G.; VELLENGA, E.; PARODY, R.; DE LA SERNA, J.; MILONE, G.; BERGUA, J.M.; LEÓN, A.; NEGRI, S.; GONZÁLEZ, J.D.; GONZÁLEZ, M.; RIVAS, C.; ESTEVE, J.; GONZÁLEZ, J.D.; AMUTIO, E.; BRUNET, S.; GARCÍA-LARAÑA, J.; COLOMER, D.; CALASANZ, M.J.; CHILLÓN, C.; BARRAGÁN, E.; BOLUFER, P.; LOWENBERG B. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans retinoic acid and anthracycline monochemotherapy: long-term outcome of the LPA 99 multicenter study by the PETHEMA Group. **Blood**, 112(8):3130–3134, 2008.

SANZ, M.A.; MONTESINOS, P. Open issues on bleeding and thrombosis in acute promyelocytic leukemia. **Thromb Res**. 125 Suppl 2:S51–S54, 2010.

SANZ, M.A.; TALLMAN, M.S.; LO-COCO, F. Tricks of the trade for the appropriate management of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 105(8):3019–3025, 2005.

SANZ, M.A. Treatment of acute promyelocytic leukemia. **Am Soc Educ Program**. 147-55, 2006.

SCHNITTGER, S.; BACHER, U.; HAFERLACH, C.; KERN, W.; ALPERMANN, T.; HAFERLACH, T. Clinical impact of FLT3 mutation load in acute promyelocytic leukemia with t(15;17)/PML-RARA. **Haematologica**, 96:1799–1807, 2011.

SCHOCH, C.; HAASE, D.; HAFERLACH, T.; FREUND, M.; LINK, H.; LENGFELDER, E.; BÜCHNER, T.; FONATSCH, C. Incidence and implicate on of additional chromosome aberrations in acute promyelocytic leukaemia with translocation t(15;17)(q22;q21): a report on 50 patients. **Br J Haematol**. 94: 493-50, 1996.

SCOCH, C.; SCHNITTGER, S.; KER, W.; LENGFELDER, E.; LOFFLER, H.; HIDDEMANN, A.; HAFERLACH, T. Rapid diagnostic approach to PML-RARalpha – positive acute promyelocytic leukemia. **Hematology J**. 3:259-63, 2002.

SHEER, D.; SOLOMON, E.; GREAVES, M.F.; LISTER, T.A. 15/17 chromosome translocation in acute promyelocytic leukemia. **Cancer Genet Cytogenet**. 5(4):353–354, 1982.

SIRULNIK, A.; MELNICK, A.; ZELEN, A.; LICHT, J.D. Molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukaemia and APL variants. **Best Pract Res Clin Haematol**. 16:387-408, 2003.

SMALL, D. Targeting FLT3 for the treatment of leukemia. **Semin Hematol**, v. 45, n. 3 Suppl 2, p. S17-21, 2008.

SOIGNET, S.L.; FRANKEL, S.R.; DOUER, D.; TALLMAN, M.S.; KANTARJIAN, H.; CALLEJA, E.; STONE, R.M.; KALAYCIO, M.; SCHEINBERG, D.A.; STEINHERZ, P.; SIEVERS, E.L.; COUTRÉ, S.; DAHLBERG, S.; ELLISON, R.; WARRELL, R.P.JR. United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia. **J Clin Oncol**. 3852–3860, 2001.

SOIGNET, S.L.; MASLAK, P.; WANG, Z.G.; JHANWAR, S.; CALLEJA, E.; DARDASHTI, L.J.; CORSO, D.; DEBLASIO, A.; GABRILOVE, J.; SCHEINBERG, D.A.; PANDOLFI, P.P.; WARRELL, R.P.JR. Complete remission after treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide. **N Engl J Med**. 339:1341-8, 1998.

SPELL, D.W.; VELAGALETI, G.V.N.; JONES, D.V.; VELASQUEZ, W.S. Translocation (15;17) and trisomy 21 in the microgranular variant of acute promyelocytic leukemia. **Cancer Genet Cytogenet**. 132: 74-6, 2002.

SWERDLOW, S.H.; CAMPO, E.; HARRIS, N.L.; JAFFE, E.S.; PILERI, S.A.; STEIN, H.; THIELE, J.; VARDIMAN, J.W. (Eds). *Who Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon, IARC Press, 2008.

TALLMAN, M.S.; ABUTALIB, S.A.; ALTMAN, J.K. The double hazard of trombophilia and bleeding in acute promyelocytic leukemia. **Semin Thromb Hemost**. 33:330-8, 2007.

TALLMAN, M.S.; ALTMAN, J.K. How I treat acute promyelocytic leukemia. **Blood**, 114:5126–5135, 2009.

TALLMAN, M.S.; KIM, H.T.; MONTESINOS, P.; APPELBAUM, F.R.; DE LA SERNA, J.; BENNETT, J.M.; DEBEN, G.; BLOOMFIELD, C.D.; GONZALEZ, J.; FEUSNER, J.H.; GONZALEZ, M.; GALLAGHER, R.; MIGUEL, J.D.; LARSON, R.A.; MILONE, G.; PAIETTA, E.; RAYON, C.; ROWE, J.M.; RIVAS, C.; SCHIFFER, C.A.; VELLENGA, E.; SHEPHERD, L.; SLACK, J.L.; WIERNIK, P.H.; WILLMAN, C.L.; SANZ, M.A. Does microgranular variant morphology of acute promyelocytic leukemia independently predict a less favorable outcome compared with classical M3 APL? A joint study

of the North American Intergroup and the PETHEMA Group. **Blood**, 116(25):5650–9, 2010.

TALLMAN, M.S. Acute promyelocytic leukemia: evolving therapeutic strategies. **Blood**, 99:759–767, 2002.

TAKAHASHI, S. Downstream molecular pathways of FLT3 in the pathogenesis of acute myeloid leukemia: biology and therapeutic implications. **J Hematol Oncol**, v. 4, p. 13, 2011.

TAYLOR JR, F.B.; TOH, C.; HOOTS, W.K.; WADA, H.; LEVI, M. Scientific and Standardization Committee Communications Towards Definition, Clinical and Laboratory Criteria, and a Scoring System for Disseminated Intravascular Coagulation - On behalf of the Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). 1327–1330, 2001.

THOMAS, X.; PIGNEUX, A.; RAFFOUX, E.; HUGUET, F.; CAILLOT, D.; FENAUX, P. Superiority of an arsenic trioxide-based regimen over a historic control combining all-trans retinoic acid plus intensive chemotherapy in the treatment of relapsed acute promyelocytic leukemia. **Haematologica**, 2006; 91:996–997.

TIRADO, C.A.; JAHN, J.A.; SCHEERLE, J.; EID, M.; MEISTER, R.J.; CHRISTIE, R.J. Variant acute promyelocytic leukemia translocation (15;17) originating from two subsequent balanced translocations involving the same chromosomes 15 and 17 while preserving the PML-RAR α fusion. **Cancer Gent Cytogenet**. 161: 70-3.0, 2005.

TOH, C.H.; HOOTS, W.K. The scoring system of the Scientific and Standardisation Committee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: a 5-year overview. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, 5, 604–606, 2007.

VAN DONGEN, J.J.M.; LHERMITTE, L.; BÖTTCHER, S.; ALMEIDA, J.; VAN DER VELDEN, V.H.; FLORES-MONTERO, J.; RAWSTRON, A.; ASNAFI, V.; LÉCREVISSE, Q.; LUCIO, P.; MEJSTRIKOVA, E.; SZCZEPAŃSKI, T.; KALINA, T.; DE TUTE, R.; BRÜGGEMANN, M.; SEDEK, L.; CULLEN, M.; LANGERAK, A.W.; MENDONÇA, A.; MACINTYRE, E.; MARTIN-AYUSO, M.; HRUSAK, O.; VIDRIALES, M.B.; ORFAO, A. EuroFlow Consortium EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow

cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. **Leukemia**, 26:1908–1975, 2012.

VARDIMAN, J.W., HARRIS, N.L., BRUNNING, R.D. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. **Blood**, 100:2292–2302, 2002.

VAN DONGEN, J.J.M.; MACINTYRE, E.A.; GABERT, J.; DELABESSE, E.; ROSSI, V.; SAGLIO, G.; GOTTARDI, E.; RAMBALDI, A.; DOTTI, G.; GRIESINGER, F.; PARREIRA, A.; GAMEIRO, P.; DIÁZ, M.G.; MALEC, M.; LANGERAK, A.W.; SAN MIGUEL, J.F.; BIONDI, A. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. **Leukemia**, 13:1901–1928, 1999.

VELLENGA, E.; MULDER, N.H. Normal level of antithrombin III in acute leukemia complicated by coagulopathy. **Acta Haematologica**, 63:336–8, 1980.

VICKERS, M.; JACKSON, G.; TAYLOR, P. The incidence of acute promyelocytic leukemia appears constant over most of a human lifespan, implying only one rate limiting mutation. **Leuk Off J Leuk Soc Am Leuk Res Fund**, UK. 14:722–726, 2000.

VILLA, R.; DE SANTIS, F.; GUTIERREZ, A.; MINUCCI, S.; PELICCI, P.G.; CROCE, L.D. Epigenetic gene silencing in acute promyelocytic leukemia. **Biochemical Pharmacology**, 68:1247–54, 2004.

VITOUX, D.; NARS, R.; DE THE, H.; Acute promyelocytic leukemia: New issues on pathogenesis and treatment response. **Int J Biochem Cell Biol**. 39:1063–70, 2007.

VOM BAUR, E.; ZECHEL, C.; HEERY, D.; et al. Differential ligand-dependent interactions between the AF-2 activating domain of nuclear receptors and the putative transcriptional intermediary factors mSUG1 and TIF1. **EMBO J**. 15:110–124, 1996.

VOVES, C.; WUILLEMIN, W.A.; ZEERLEDER, S. International Society on Thrombosis and Haemostasis score for overt disseminated intravascular coagulation predicts organ dysfunction and fatality in sepsis patients. **Blood Coagul Fibrinolysis**, 17:445–451, 2006.

WAN, T.S.K.; MA, S.K.; AU, W.Y.; LIU, H.S.Y.; CHAN, J.C.W.; CHAN, L.C.; Trisomy 21 and other chromosomal abnormalities in acute promyelocytic leukemia. **Cancer Genet Cytogenet.** 140: 170-3, 2003.

WANG, Z.-Y.; CHEN, Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. **Blood**, 111: 2505–2515, 2008.

WARREL, R.P.; FRANKEL, S.R.; MILLER, W.H.; DEGOS, L. Differentiation therapy of acute promyelocytic leukemia with tretinoin (all-trans-retinoic acid). **N Engl J Med.** 324:1385–1393, 1991.

WHO. Cancer. Disponível em: <<http://www.who.int/cancer/en/>>. Acesso em: 05 de dezembro de 2013.

WILDE, J.T.; DAVIES, J.M. Haemostatic problems in Acute Leukaemia. **Blood**, 4:245-51, 1990.

XU, L.; ZHAO, W.L.; XIONG, S.M.; SU, X.Y.; ZHAO, M.; WANG, C. molecular cytogenetic characterization and clinical relevance of additional, complex and/or variant chromosome abnormalities in acute promyelocytic leukemia. **Leukemia**. 15:1359- 68, 2001.

ZANG, Y.; ROWLEY, J.D. Chromatin structural elements and chromosomal translocations in leukemia. **DNA Repair**. 1282-97, 2006.

ZHANG, J.W.; WANG, J.Y.; CHEN, S.J.; CHEN, Z. Mechanisms of all-trans retinoic acid- induced differentiation of acute promyelocytic leukemia cells. **J Biosci.** 25:275-84, 2000.

ZHANG, T.; WESTERVELT, P.; HESS, J.L. Pathologic, cytogenetic and molecular assessment of acute promyelocytic leukemia patients treated with arsenic trioxide (As₂O₃). **Mod Pathol.** 13:954-61, 2000.

ZHONG, S.; SALOMONI, P.; PANDOLFI, P.P. The transcriptional role of PML and the nuclear body. **Nat Cell Biol.** 2: 85-90, 2000.

ZHOU, G.B.; CHEN, S.J.; CHEN, Z. Acute promyelocytic leukemia: A model of molecular target based therapy. **Hematology**, 10:270-80, 2005.

ZHOU, G.B.; LI, G.; CHEN, S.J.; CHEN, Z. From dissection of disease pathogenesis to elucidation of mechanisms of targeted therapies: leukemia research in the genomic era **Acta Pharmacol Sin.** 9:1434-49, 2007.

ZHU, J.; CHEN, Z.; LALLEMAND-BREITENBACH, V.; DE THÉ, H. How acute promyelocytic leukaemia revived arsenic. **Nat Rev Cancer.** 2:705–713, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **“Leucemia Promielocítica Aguda: Avaliação Retrospectiva dos Casos Diagnosticados e Tratados pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina entre 2001 e 2013”**. Neste estudo pretendemos avaliar os casos de Leucemia Promielocítica Aguda diagnosticados e tratados pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) entre os anos de 2001 a 2013.

O motivo que nos leva a estudar: estudar a realidade da Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) no HU-UFSC e identificar os fatores que influenciaram na resposta ao tratamento, ocorrência de recidiva e óbito. Avaliar a incidência e o perfil dos pacientes com diagnóstico de LPA no HU-UFSC. Calcular a sobrevida desses pacientes.

Para este estudo adotaremos os seguintes procedimentos: análise através dos prontuários, laboratório de análises clínicas e laboratórios de apoio, os dados dos pacientes com diagnóstico de LPA no HU-UFSC.

Não há riscos para nenhuma das partes.

Os benefícios deste trabalho é que fará um retrato sobre a realidade da LPA no HU-UFSC e mostrará as suas dificuldades que podem ser sanadas, visando um melhor atendimento dos pacientes com essa doença tão peculiar.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão.

O (A) Sr (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, no Centro de Hematologia do Hospital Universitário da UFSC e a outra será fornecida a você.

Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo **“Leucemia Promielocítica Aguda: Avaliação Retrospectiva dos Casos Diagnosticados e Tratados pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina entre 2001 e 2013”**, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Florianópolis, _____ de _____ de 20 .

Nome Assinatura participante Data

Nome Assinatura pesquisador Data

Nome Assinatura testemunha Data

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o

CEP HU – Comitê de Ética em Pesquisa

APÊNDICE 2: DOCUMENTO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Leucemia Promielocítica Aguda: Avaliação Retrospectiva dos Casos Diagnosticados e Tratados pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina entre 2001 a 2011.

Pesquisador: Maria Cláudia Santos da Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 03704812.7.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 167.640

Data da Relatoria: 12/11/2012

Apresentação do Projeto:

Leucemia Promielocítica Aguda: Avaliação Retrospectiva dos Casos Diagnosticados e Tratados pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina entre 2001 a 2011.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar os casos de Leucemia Promielocítica Aguda diagnosticados e tratados pelo Serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) entre os anos de 2001 a 2011.

Investigar a incidência de LPA no HU-UFSC e compará-la com as outras LMAs e também com os dados de literatura nacionais e

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não existem

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Já foi evetuoado

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Já foi analisado

Recomendações:

Não se aplicam

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-900
UF: SC **Município:** FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-9206 **Fax:** (48)3721-9696 **E-mail:** cep@reitoria.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não constam

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

FLORIANOPOLIS, 10 de Dezembro de 2012

Assinador por:

Washington Portela de Souza
(Coordenador)